

THÈSES

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ES-SCIENCES PHYSIQUES

par

DANE VASILESCU

Licencié ès-Sciences Physiques

Première Thèse

ETUDE DE QUELQUES PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DE L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE ET DE SES CONSTITUANTS

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 26 Septembre 1964 devant la Commission d'Examen

MM. G. MESNARD Président

R. UZAN

G. ASCH

} Examineurs

THÈSES

présentées

A LA FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE LYON

pour obtenir

le grade de DOCTEUR ES-SCIENCES PHYSIQUES

par

DANE VASILESCU

Licencié ès-Sciences Physiques

Première Thèse

ETUDE DE QUELQUES PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES DE L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE ET DE SES CONSTITUANTS

Deuxième Thèse

PROPOSITIONS DONNEES PAR LA FACULTE

Soutenues le 26 Septembre 1964 devant la Commission d'Examen

MM. G. MESNARD Président

R. UZAN }
G. ASCH } Examineurs

Doyens honoraires

MM. LONGCHAMBON, DOUIN, MOUSSA, GAUTHIER Henri

Professeurs honoraires

MM. LOCQUIN, de LARAMBERGUE, SOLLAUD, MENTZER, MOUSSA,
JAFFARD, DOUIN, Henri EYRAUD, DEJARDIN, VIRET

Doyen

M. BRACONNIER

Assesseurs

MM. MESNARD
BOIDIN

Professeurs

MM. LONGCHAMBON	Minéralogie
PRETTRE	Chimie industrielle
COURTY	Chimie-Physique
KUHNER	Botanique
MALECOT	Mécanique rationnelle et appliquée
PARIS	Chimie minérale
AUMERAS	Chimie
COLONGE	Chimie organique
JANIN	Physique générale
FLANDRIN	Géologie appliquée
BERNARD	Physique industrielle
DUFAY Jean	Astronomie
NIGON	Zoologie expérimentale
GAUTHIER Henri	Géologie générale
WAUTIER	Zoologie
CHOPIN	Chimie biologique
CUEILLERON	Chimie
BRACONNIER	Calcul différentiel et intégral

MM. EYRAUD Charles	Chimie-Physique appliquée
SARAZIN	Physique nucléaire
BOIDIN	Microbiologie et Mycologie
PERES	Physiologie
MESNARD	Electronique
GRANDMONTAGNE	Physique
BOUTILLIER	Minéralogie
LAFOUCRIERE	Physique nucléaire
DREUX	Chimie organique
TEICHNER	Chimie industrielle
PAVANS DE CECCATTY	Zoologie
MERLIN	Chimie analytique
DUFAY Maurice	Physique de l'Atmosphère
FRAISSE	Mathématiques
LUBET	Physiologie
PHILBERT	Physique nucléaire
COHEN-ADAD	Chimie
DAVID Louis	Géologie générale
CHANEL	Psychophysiologie
MAURY	Méthodes Mathématiques de la Physique
DEPRAZ	Physique nucléaire
GAUTHIER Jean	Chimie.

Professeurs sans chaire

MM. GAUME	Physique
FERON	Mathématiques
LAFORGUE	Physique
LEGAY	Zoologie expérimentale S. P. C. N.
UZAN	Physique S. P. C. N.
CHENEVOY	Géologie appliquée
GINET	Zoologie
ASCH	Physique
MICHEL Pierre	Minéralogie
DUCET	Biologie végétale
Mle MAITROT	Physique
GEVIN	Géologie générale
PONASSE	Mathématiques
d'INCAN	Physique
LEFEBVRE	Mathématiques
PERNET	Mathématiques
CHERY	Physique
BERGEON	Physique C. S. U.
Mle GAUTHERON	Chimie biologique



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553420_0013

Maîtres de Conférences

Mme ERICSON	Physique générale
MM. MARTEL	Mécanique
MATHIEU	Mécanique des Fluides
ERBEIA	Physique
DESCOTES	Chimie organique
PICARD Philippe	Mathématiques
LEMOIGNE	Botanique
DEMARCQ	Géologie générale
MICHEL Georges	Biochimie
LEBRETON	Biologie végétale
DAVID Jean	Biologie animale
TOUSSET	Chimie propédeutique
FEUVRAIS	Physique Electricité
PICARD Claude	Mathématiques
SCHMITT	Physique M. P. C.

Maître de Conférences adjoint

M. PIERRON	Chimie
------------	--------

Conseiller Administratif

M. BURNET

Secrétaire Principal Honoraire

M. ROUX

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

A MA FEMME

A MON MAITRE MONSIEUR LE PROFESSEUR MESNARD

Nos plus vifs remerciements vont à Monsieur le Professeur Mesnard, Directeur du Laboratoire d'Electronique et Physique du Solide, qui nous a accueilli en son laboratoire et nous a permis, tant par ses encouragements que par son aide précieuse, de mener à fin notre travail.

Que notre Maître trouve ici l'expression de notre sincère gratitude.

Nous adressons l'expression de toute notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Uzan, pour les incessants conseils et remarques qu'il nous a prodigués durant la préparation de notre thèse, et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire partie de notre Jury.

Nous remercions Monsieur le Professeur Asch, qui s'est toujours intéressé à nos recherches, d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'être membre de notre Jury.

Nous remercions Monsieur Sadron, Professeur au Muséum d'Histoire Naturelle, Directeur du Centre de Recherches sur les Macromolécules de Strasbourg, pour tout l'intérêt qu'il a manifesté à l'égard de nos recherches. Nous lui sommes reconnaissants de notre accueil au sein du "Groupe Aspects Physico-chimiques de la Biologie", qui a mis à notre disposition de nombreux produits très précieux, et grâce auquel nous avons pu élargir nos connaissances en Biophysique.

Toute notre reconnaissance va à Monsieur le Professeur Déjardin, Membre Correspondant de l'Académie des Sciences, pour la bienveillance avec laquelle il a toujours suivi nos travaux.

Nous remercions enfin toute l'équipe de notre Laboratoire pour les conseils, l'aide et l'encouragement qu'elle nous a apporté, et en particulier: Monsieur Dolce Chef de Travaux, Messieurs Souquet et Raynaud, ainsi que tout le Personnel Technique.

I N T R O D U C T I O N

I. APERCU HISTORIQUE ET BIOLOGIQUE

Bien que notre travail ait porté sur l'étude de propriétés physiques des acides nucléiques et de leurs constituants, cette introduction sommaire est nécessaire du fait que ces corps présentent une grande importance biologique et qu'il peut apparaître un lien entre les propriétés physiques et le comportement biologique.

DECOUVERTE DES ACIDES NUCLEIQUES ET CONSEQUENCES

En 1871, MIESCHER (1) annonce la découverte d'une nouvelle substance la nucléine, isolée à partir de noyaux de cellules de pus. D'autres chercheurs réussissent par la suite à isoler des "nucléines" provenant de divers produits (spermatozoïdes, noyaux d'erythrocytes, Thymus de veau, ...). Ces "nucléines" étaient en fait des nucléoprotéines, c'est-à-dire la combinaison d'une protéine basique et d'un "acide nucléique", terme employé pour la première fois par ALTMANN (2).

L'analyse chimique des nombreux acides nucléiques isolés a montré ensuite que l'on se trouvait en fait en présence de deux acides nucléiques dont l'hydrolyse libérait pour chacun quatre nucléotides (voir description biochimique). La dégradation des nucléotides libère de l'acide phosphorique, un sucre et quatre bases azotées.

On appela Acide Désoxyribonucléique (A D N) celui qui contenait pour sucre le 2-D-Désoxyribose (3) et les quatre bases azotées suivantes : Guanine (2-amino-6-hydroxypurine), Adénine (6-amino-purine), Cytosine (2-hydroxy-6-amino-purine) et Thymine (5-méthyl-uracile).

Le deuxième fut nommé Acide Ribonucléique (A R N) ; le sucre est le ribose (4) et la thymine est remplacée par l'Uracile (2-6-dihydroxy-pyrimidine), les trois autres bases étant les mêmes que dans l'A D N (figure 1).

Les bases azotées puriques (adénine et guanine) et pyrimidiques (cytosine, thymine, uracile) furent découvertes grâce aux travaux de KOSSEL, LEVENE et STEUDEL.

De nombreuses recherches eurent pour but de préciser la localisation de l'A D N et de l'A R N (les notations D N A et R N A sont employées couramment dans les ouvrages et publications anglo-saxons) dans les tissus animaux et végétaux et dans les micro-organismes comme les virus. On confirma finalement, avec les études histochimiques de BRACHET (5) et spectrophotométriques dans l'U. V. de CASPERSSON (6), que l'A R N était contenu dans le cytoplasme et l'A D N dans le noyau de toute cellule animale ou végétale.

Des recherches plus poussées permirent de préciser que l'A D N était localisé dans les bandes sombres des chromosomes. Quant à l'A R N il se trouve en grande quantité dans le cytoplasme (microsomes et mitochondries) ; il existe cependant un peu d'A R N dans le noyau (localisé dans le nucléole). Il se dégagea ainsi l'idée que l'A D N (du fait de sa présence spécifique dans les chromosomes) pouvait jouer un rôle capital dans le processus héréditaire.

Enfin, R. et C. VENDRELY étudièrent la teneur individuelle des noyaux en A D N. Colette VENDRELY en donne la conclusion dans sa thèse (Réf. 7, page 75) : "Les noyaux (en repos mitotique) de tous les organes étudiés ont la même teneur individuelle en acide désoxyribonucléique et cette teneur est le double de celle des spermatozoïdes de la même espèce". La quantité d'A D N contenue dans un noyau est de l'ordre de 2 à 6. 10^{-12} gramme suivant les espèces étudiées.

Nous excluons de cette brève introduction biologique tout approfondissement d'ordre purement génétique mais il convient de dire que cette science s'est considérablement enrichie depuis la connaissance de l'A D N.

II. DESCRIPTION BIOCHIMIQUE DE L'A D N

Nous présenterons un exposé schématique nécessaire pour l'intelligence du travail entrepris. Cette description très sommaire passe sous silence les méthodes spéciales d'hydrolyse ainsi que les préparations synthétiques de certains sous-produits de l'A D N.

A) NUCLEOSIDES DE L'A D N

Les nucléosides sont préparés par hydrolyse chimique ou enzymatique et même, pour certains, par synthèse. Ce sont des glucosides puriques ou pyrimidiques. Les cinq principaux sont :

DESOXYGUANOSINE	9- β - D-(2' désoxy) ribofuranosido-guanine
DESOXYADENOSINE	9- β - D-(2' désoxy) ribofuranosido-adénine
DESOXYCYTIDINE	3- β -D-(2' désoxy) ribofuranosido -cytosine
THYMIDINE	3- β -D- (2' désoxy) ribofuranosido-thymine
DESOXYURIDINE	3- β -D- (2' désoxy) ribofuranosido-uracile

Sur la figure 2 nous avons représenté les nucléosides contenant les bases propres à l'A D N.

Produits de l'hydrolyse des deux types d'acides nucléiques

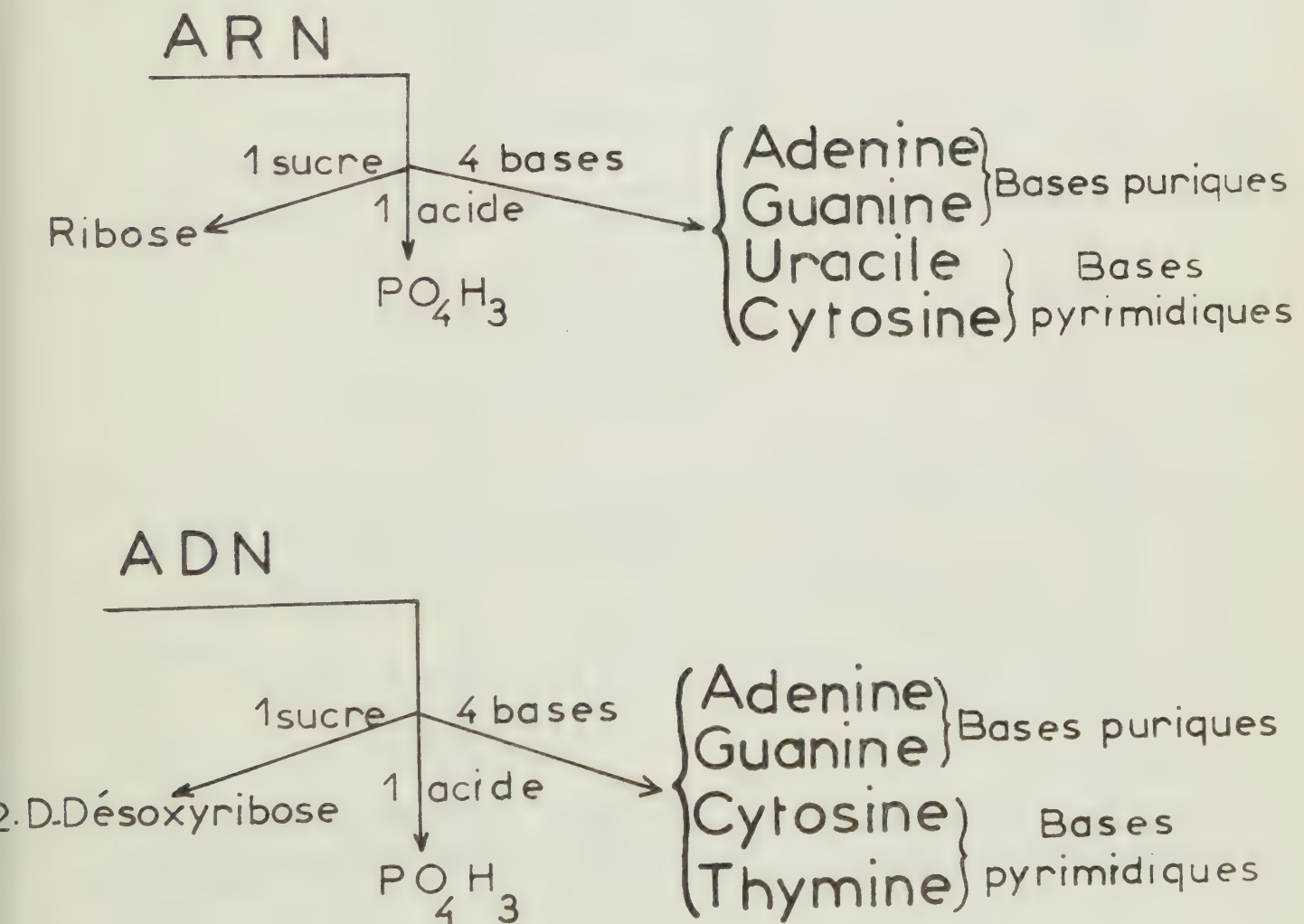
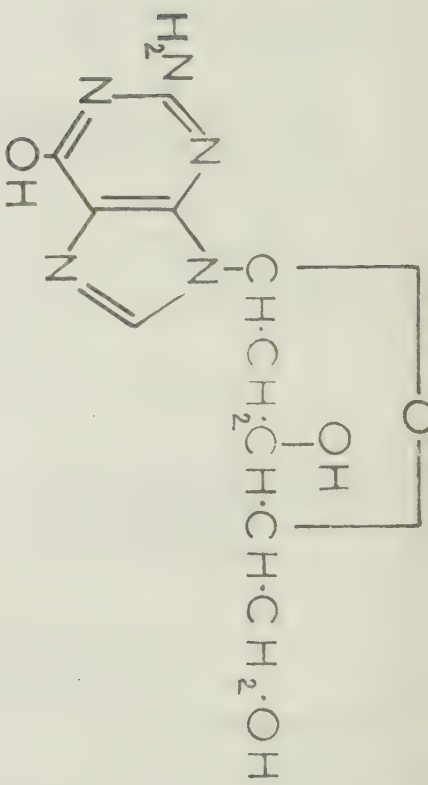
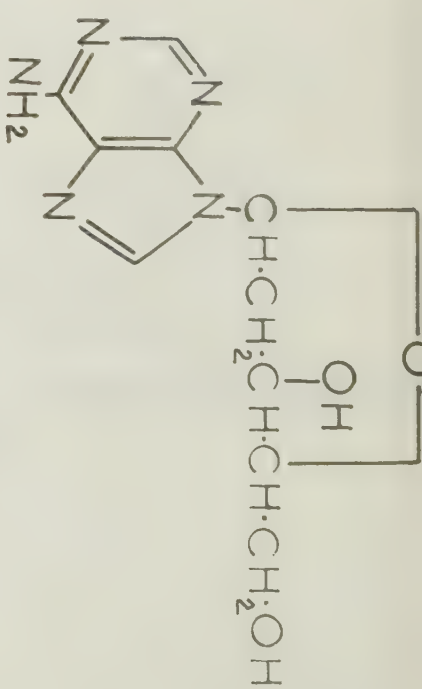


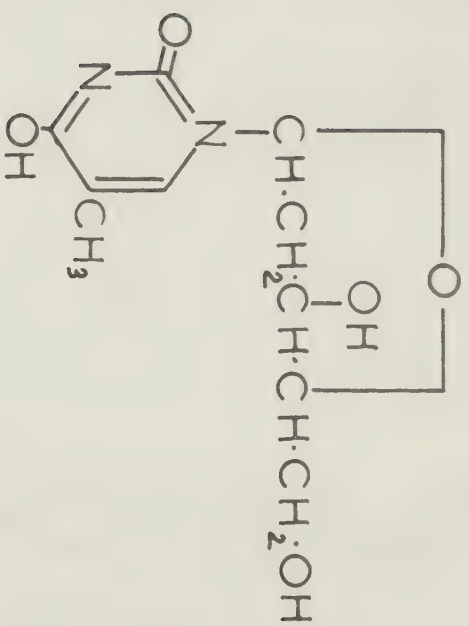
Fig.1



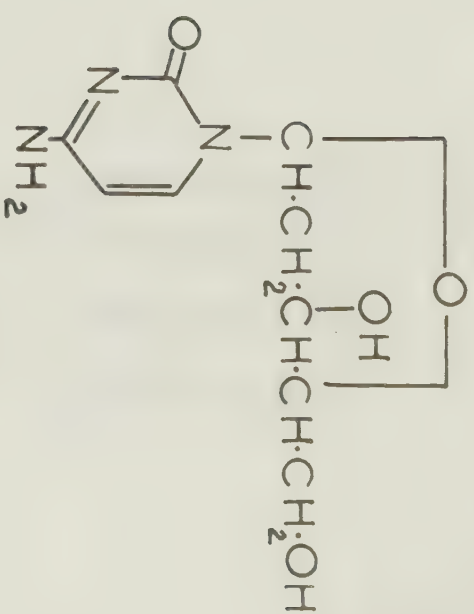
DESOXYGUANOSINE



DESOXYADENOSINE



THYMIDINE



DESOXYCYTIDINE

Fig. 2

B) NUCLEOTIDES

Les nucléotides constituent les motifs structuraux les plus importants des acides nucléiques. Aussi renonce-t-on souvent à la dénomination "acides nucléiques" pour employer le terme de "POLYNUCLEOTIDES", naturels ou synthétiques suivant le procédé d'obtention. Les nucléotides sont les esters phosphoriques des nucléosides. On peut obtenir successivement trois esters pour une même base purique ou pyrimidique selon que l'on engage une, deux, ou trois moles de PO_4H_3 .

Les unités monomères de l'A D N sont formées de nucléotides monophosphates qui sont :

- L'Adénine désoxyriboside phosphate (A M P)
- Le Guanine désoxyriboside phosphate (G M P)
- L'Acide Thymidylque (T M D)
- Le Cytosine désoxyriboside phosphate (C M P)

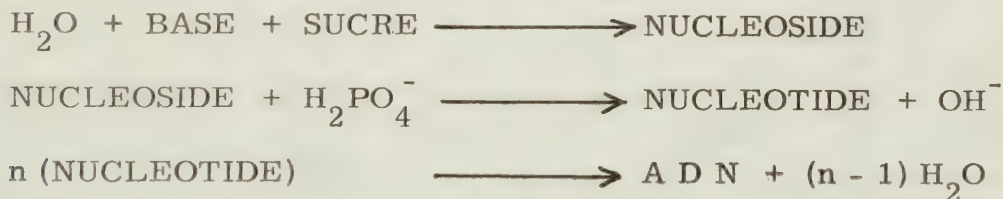
Nous donnons comme exemple la formule de l'A M P (Adénine désoxyriboside -5-phosphate) - figure 3 -.

Signalons enfin les polynuécléotides synthétiques obtenus récemment par Kornberg, Ochoa, Grunberg-Manago (8) qui sont :

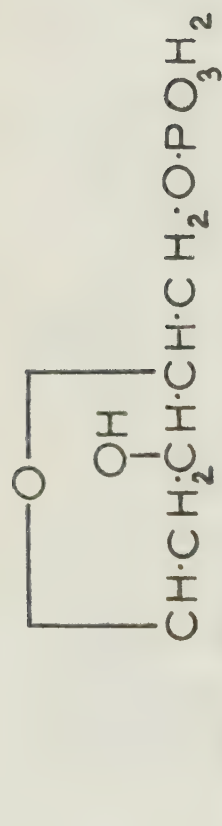
- L'Acide polyriboguanylique (poly G)
- L'Acide polyriboadénylique (poly A)
- L'Acide polyribocytidilique (poly C)
- L'Acide polyribouridilique (poly U)
- L'Acide polyriboinosinique (poly I)

La structure du monomère d'un acide nucléique étant parfaitement définie, c'est l'agencement des nucléotides qui conduira au haut polymère qu'est l'A D N (structure secondaire).

On peut résumer ce qui précède de façon schématique :

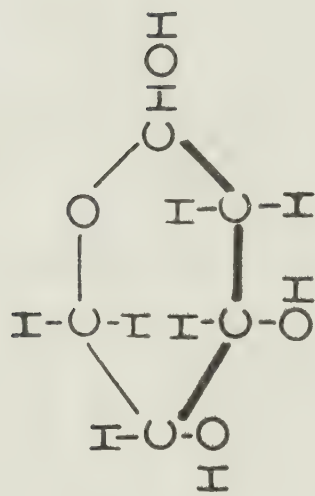


Nous donnons enfin les formules du 2-D-désoxyribose, des bases organiques de l'A D N et de l'A R N, ainsi que des produits apparentés (figures 4, 5 et 6).



AMP

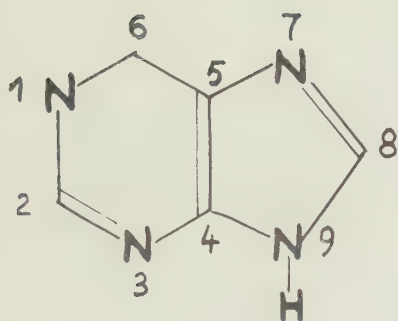
Fig. 3



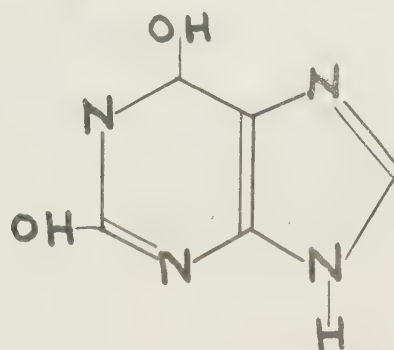
2-D-DESOXYRIBOSE

Fig. 4

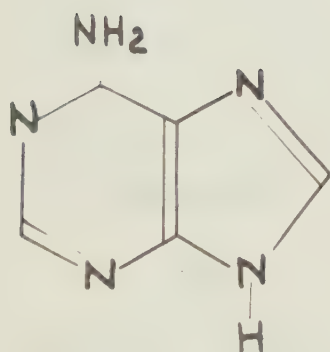
BASES PURIQUES



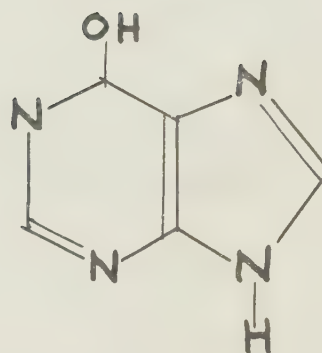
PURINE



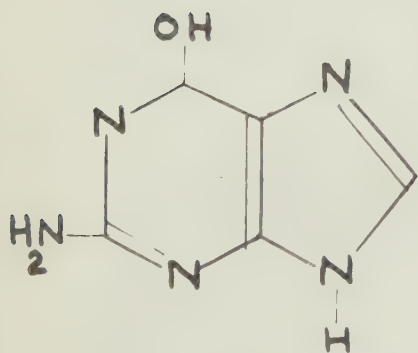
XANTHINE



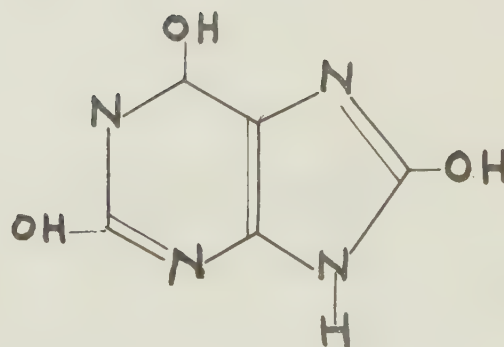
ADENINE



HYPOXANTHINE



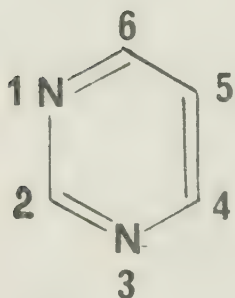
GUANINE



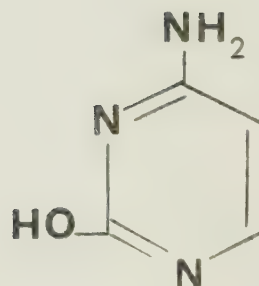
ACIDE URIQUE

Fig. 5

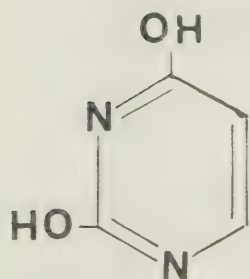
Pyrimidine



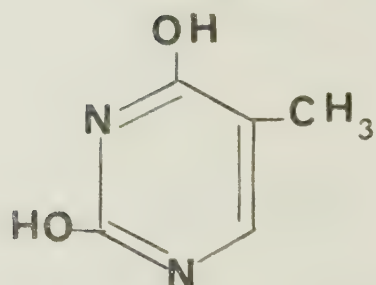
Cytosine



Uracile



Thymine



BASES PYRIMIDIQUES

Fig.6

III. DESCRIPTION BIOPHYSIQUE

Les bases puriques et pyrimidiques sont des produits parfaitement définis qui ne peuvent s'altérer. Par contre l'A D N est sujet à dénaturation si l'on ne prend pas des précautions spéciales. La plupart des propriétés physico-chimiques de l'A D N mettent en relief cet aspect.

A) PROPRIETES OPTIQUES

1) Absorption ultra-violette

Les bases et l'A D N possèdent des spectres d'absorption spécifiques, les pics se situant vers 2600 Å. (9)

Pour un pH donné, les pics d'absorption des bases correspondent à un coefficient d'absorption molaire ϵ stable.

L'A D N ou ses sels de sodium, lithium etc ... absorbe à 2600 Å mais, pour un pH donné, la densité optique est susceptible de variations suivant que le produit est plus ou moins dénaturé. Etant donné la difficulté de définir un coefficient d'absorption molaire pour une macromolécule dont l'état de polymérisation est plus ou moins défini, on caractérise l'absorption ultra-violette par un coefficient introduit par CHARGAFF et ZAMENHOF (10) :

$$\epsilon (P) = \frac{(D.O) \times 31}{c.d.}$$

D.O. étant la densité optique

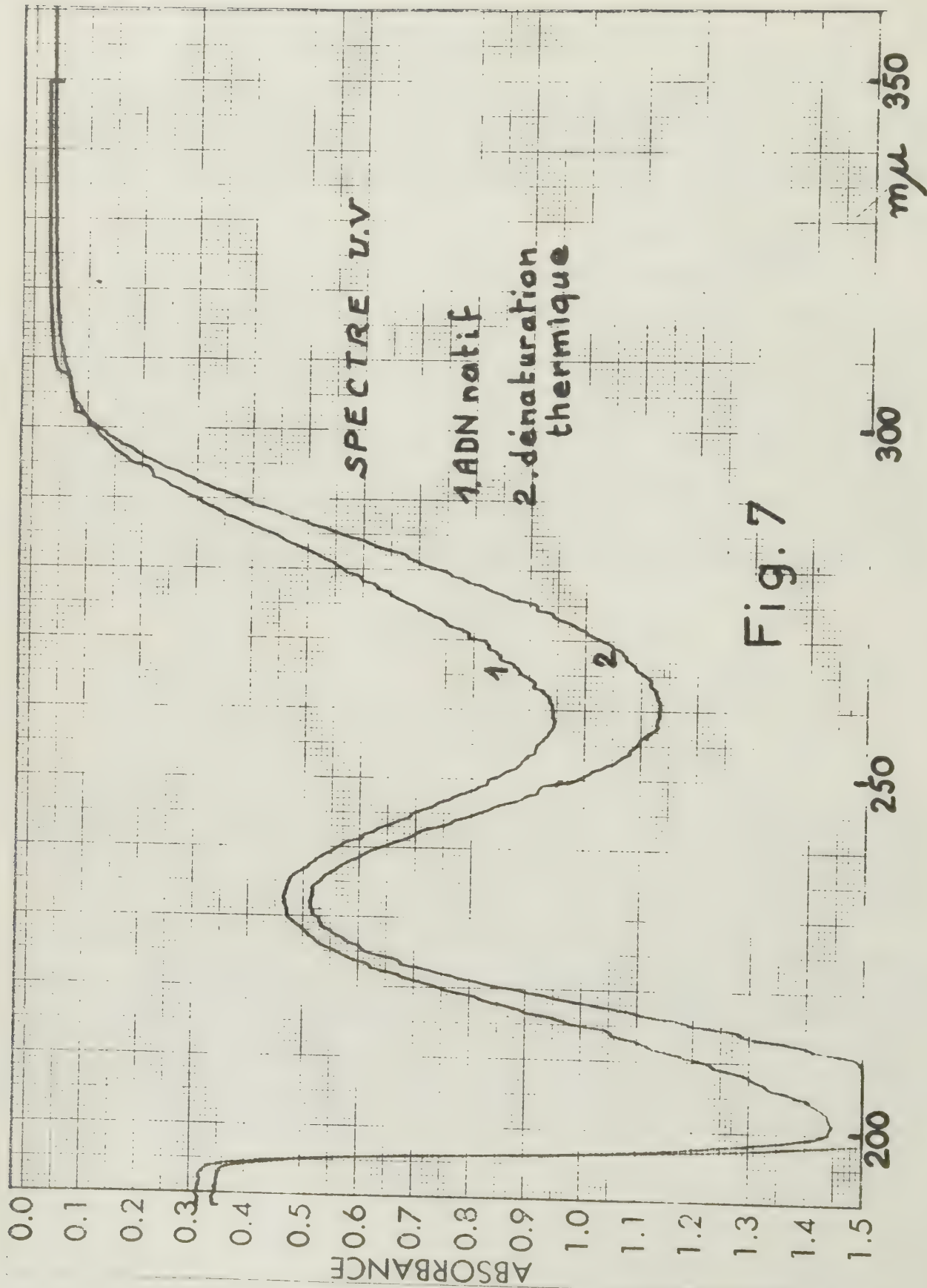
c la concentration en phosphate en mg/cm^3

d la largeur de la cuve (habituellement 1 cm)

Les valeurs de $\epsilon (P)$ sont comprises entre 6000 et 8000 et caractérisent l'état de l'A D N. Un acide désoxyribonucléique natif hautement polymérisé possède un $\epsilon (P)$ de l'ordre de 6800-7000. Au-dessus de 7200, selon CHARGAFF, on peut considérer que l'acide nucléique est en partie dénaturé. Mais ce chiffre n'est donné qu'à titre indicatif.

On évite la dénaturation en gardant l'A D N sous forme de fibres à des températures de l'ordre de -20° à -15°C .

Les solutions d'A D N sont stables si elles sont salines (ClNa le plus souvent) ; la concentration limite inférieure assurant la stabilité est de 10^{-3}M . Par simple chauffage d'une solution d'A D N natif on augmente le $\epsilon (P)$ comme le montre la figure 7. Aussi faut-il conserver vers $2 - 4^\circ$ les solutions d'acide désoxyribonucléique fraîchement préparées. L'influence du pH et de la concentration saline ont été étudiés systématiquement par R. THOMAS (11).



2) Spectres infra-rouges

Les spectres infra-rouges des bases sont complexes ; les résultats caractérisent les divers groupes substituants sur les noyaux puriques ou pyrimidiques. L'A D N possède aussi un spectre très complexe, dont la forme dépend de son état d'hydratation.

Les figures 8, 9, 10, 11 et 12 représentent les spectres enregistrés à l'aide d'un spectrographe Perkin Elmer (Infracord) avec des comprimés des divers produits amalgamés dans du KBr (+).

3) Polarimétrie

Du fait de l'existence d'une structure hélicoïdale, on peut prévoir des propriétés rotatoires pour les solutions d'A D N.

Des travaux de FRESCO et DOTY (12) et (13) ont parfaitement mis en évidence l'influence de l'état biophysique de l'A D N sur les résultats.

Selon que celui-ci est à l'état natif ou dénaturé à divers degrés, on obtient des courbes de "fusion" et un effet Cotton très différents.

Nous reproduisons sur la figure 13 une courbe de fusion et la manifestation de la dispersion rotatoire (effet Cotton) en fonction de l'état de dénaturation du produit. (figure 14)

B) PROPRIETES STRUCTURALES. LE CARACTERE MACROMOLECULAIRE DE L'A D N

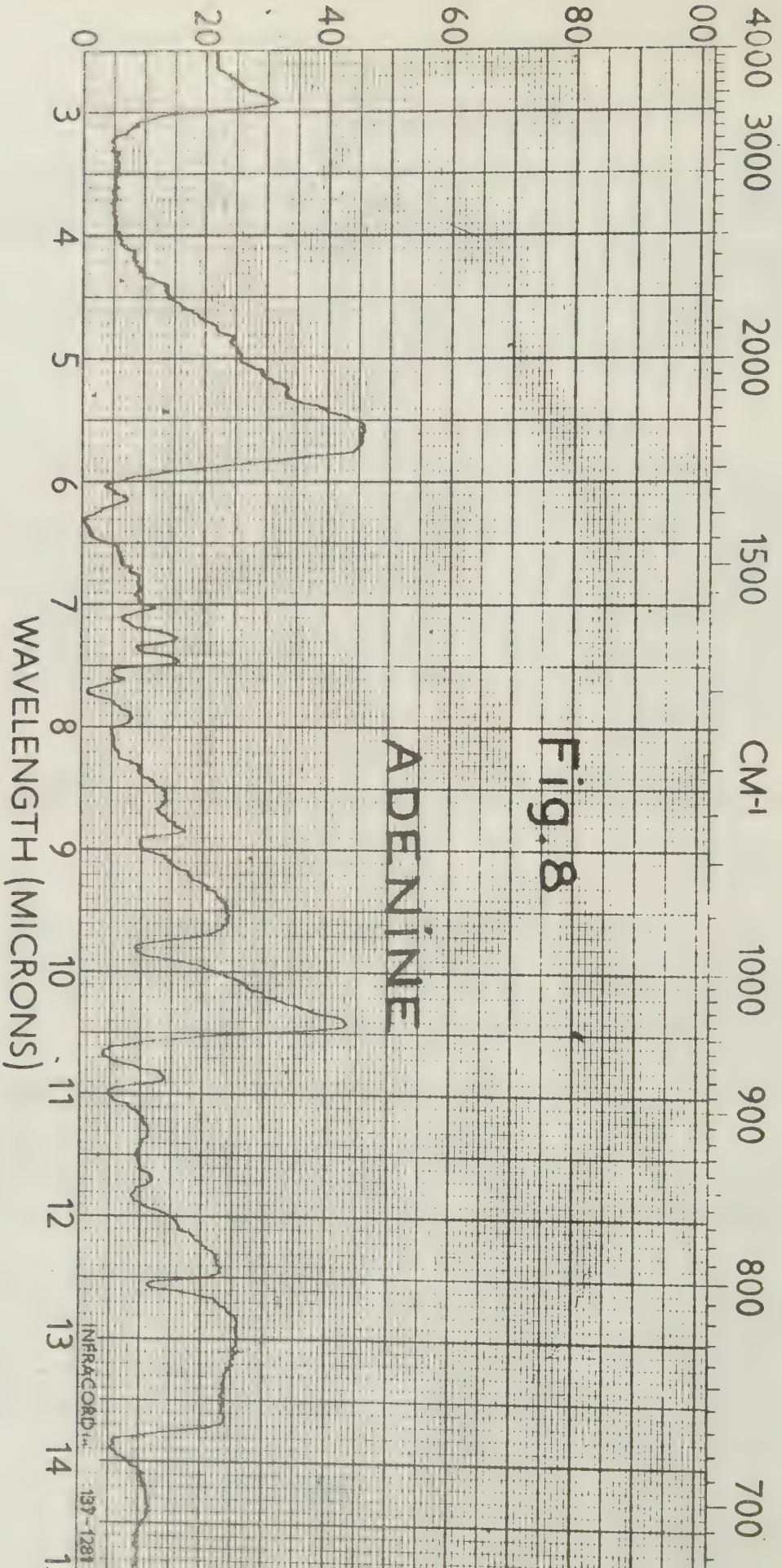
La connaissance de la structure secondaire de l'A D N est fondamentale et c'est sur elle que reposent tous les raisonnements et les théories que l'on a pu faire jusqu'ici. Nous allons passer en revue rapidement les résultats des travaux les plus importants.

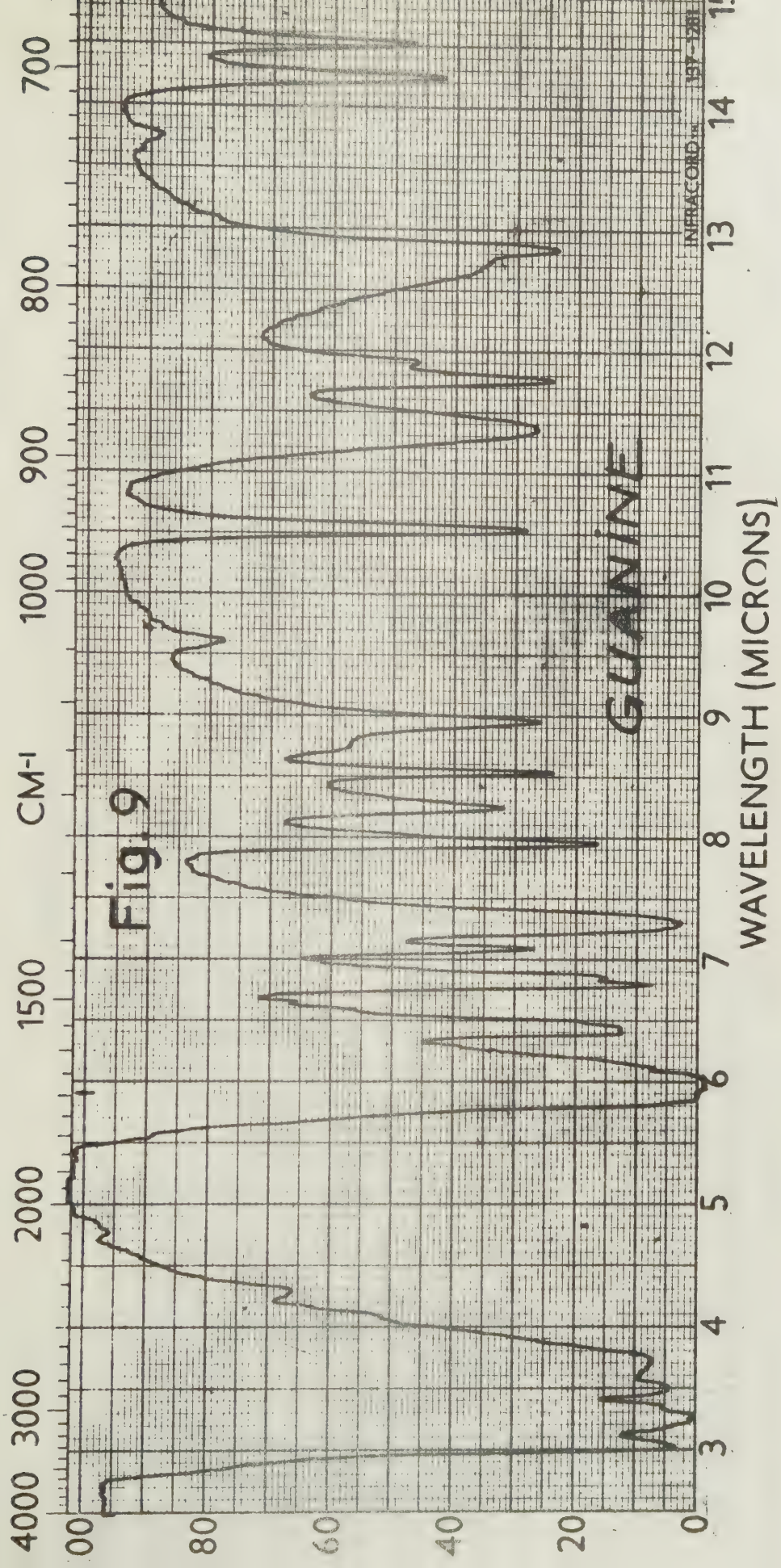
1) La macromolécule d'A D N en solution. Propriétés hydrodynamiques

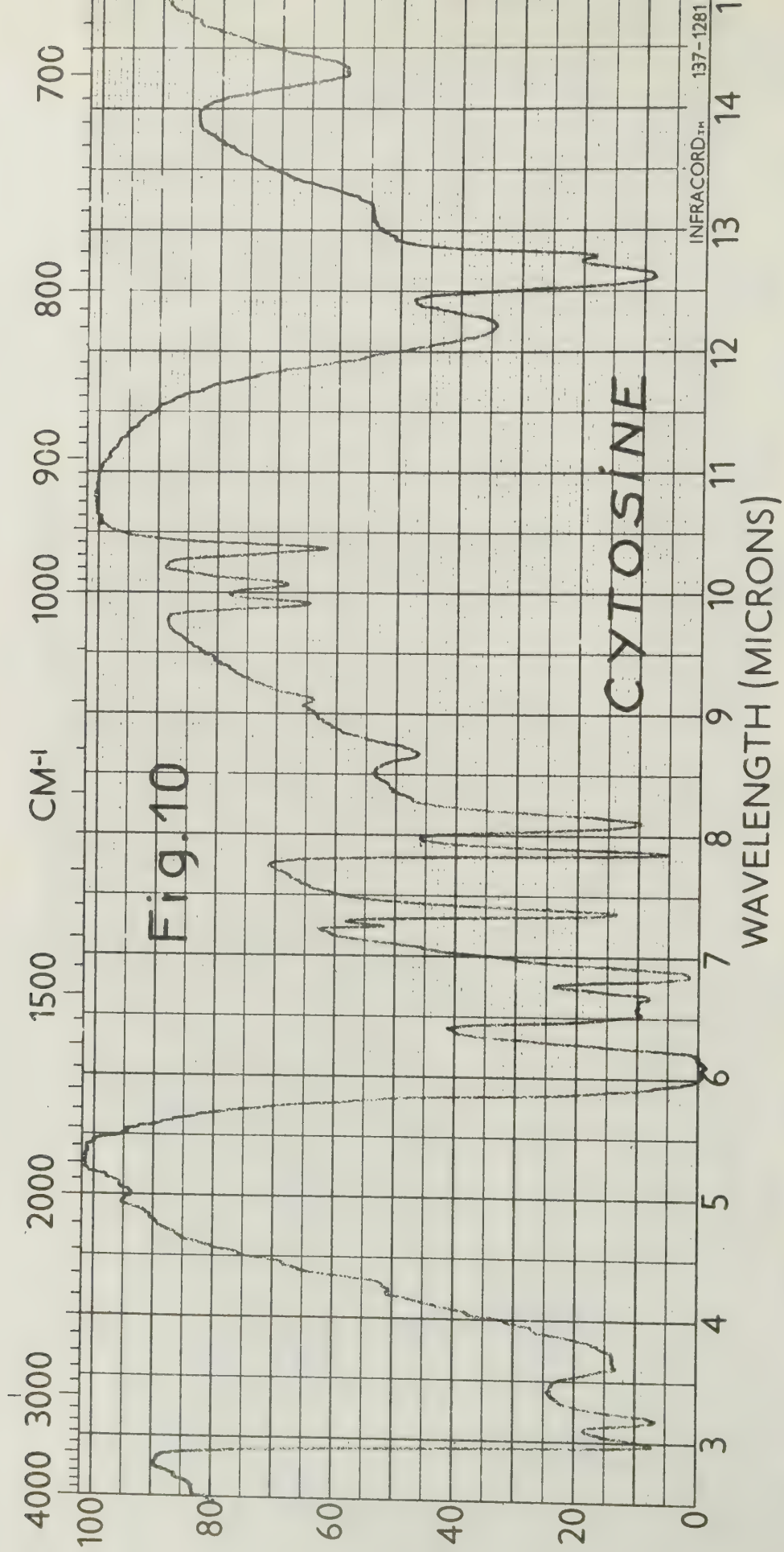
On constate déjà que l'A D N est une macromolécule, en étudiant la viscosité de ses solutions dans l'eau saline. En effet de la viscosité intrinsèque on peut déduire la masse molaire M (Loi de Staudinger) par la relation :

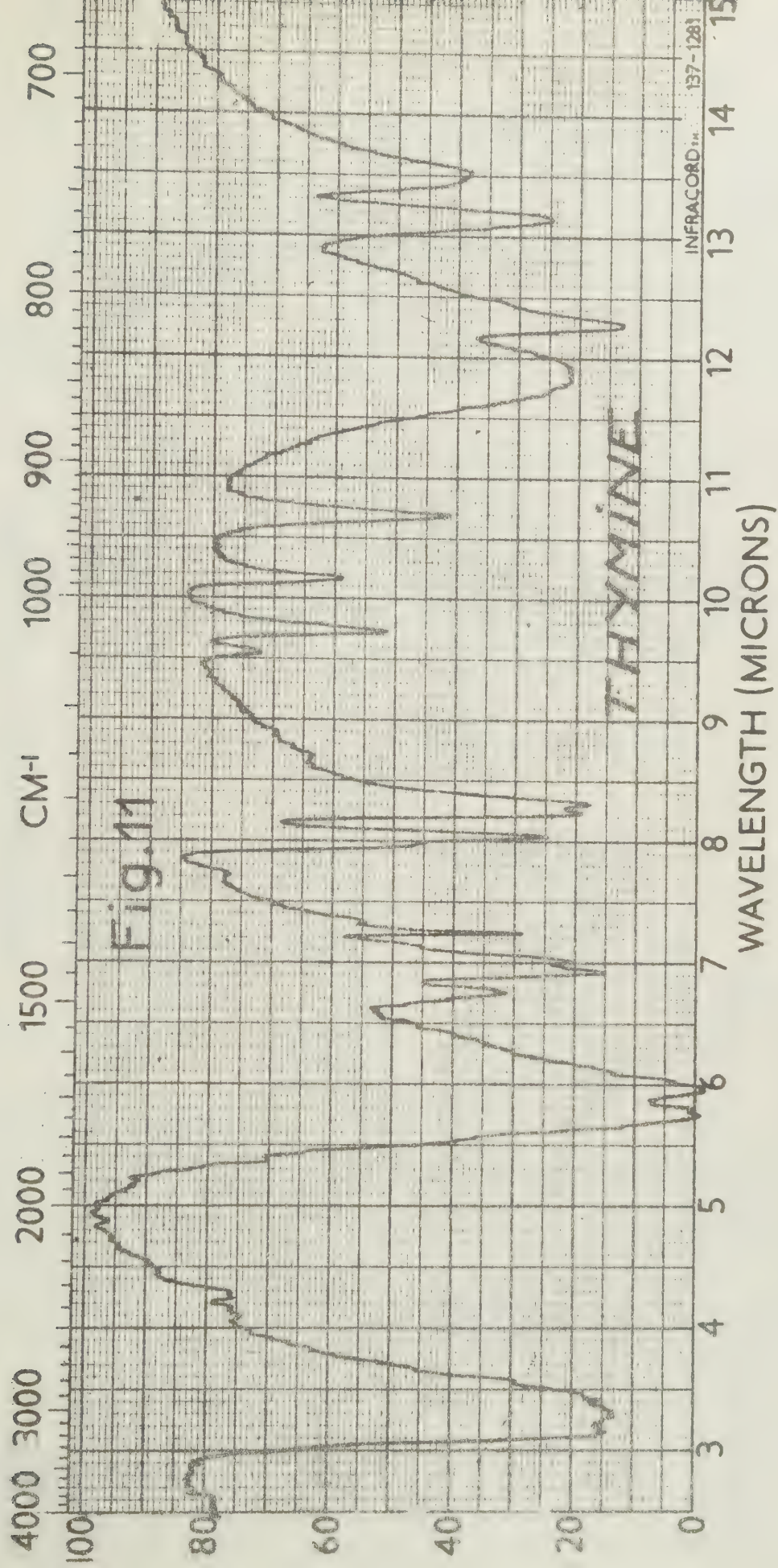
$$[\eta] = K \cdot M^a$$
 où K et a sont des constantes pour chaque polymère. On trouve que M est de l'ordre de 10^7 pour des A D N extraits de thymus de veau (14).

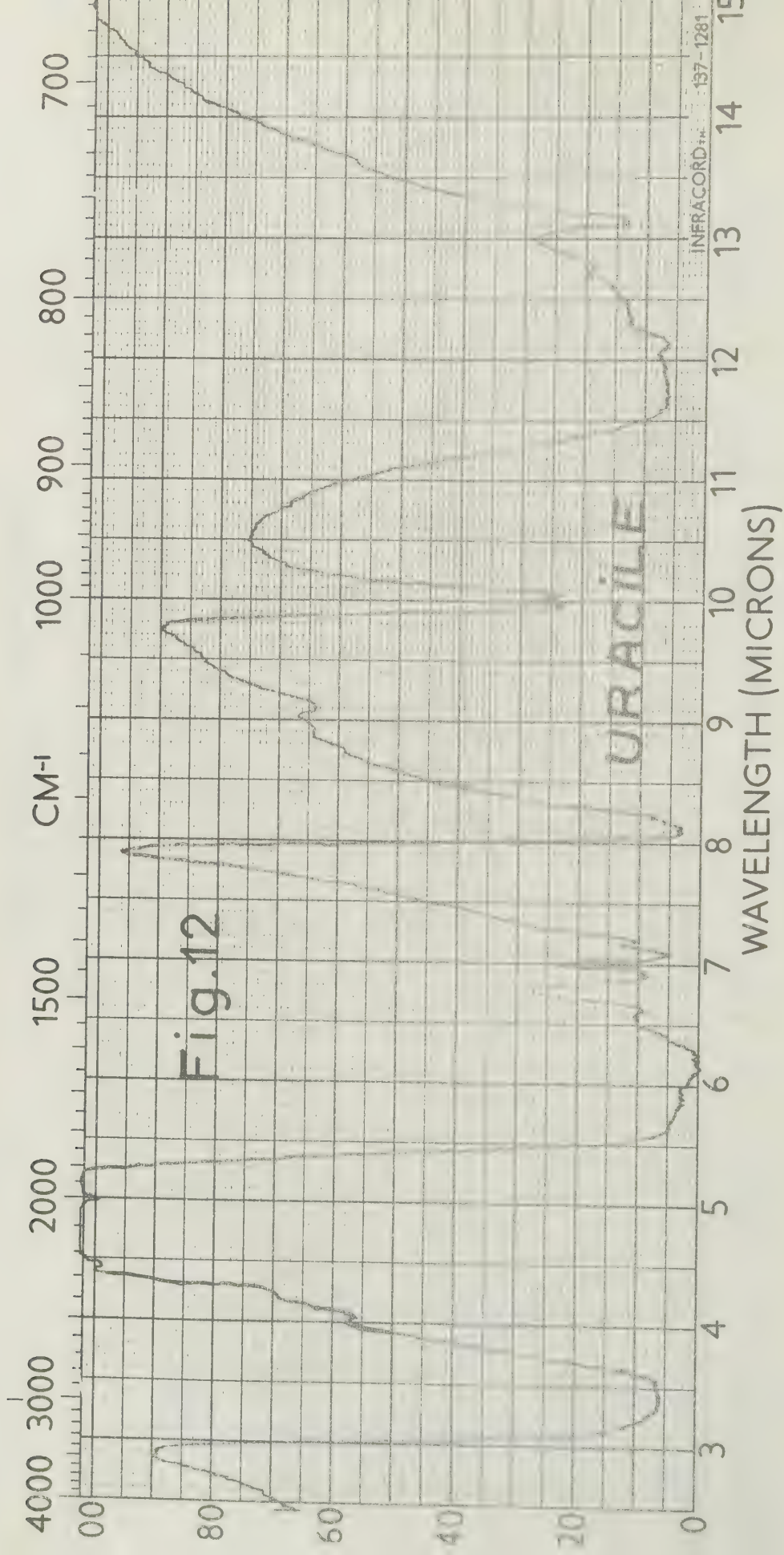
(+) Ces enregistrements ont été réalisés avec le concours de M. Guillaud que nous tenons à remercier.





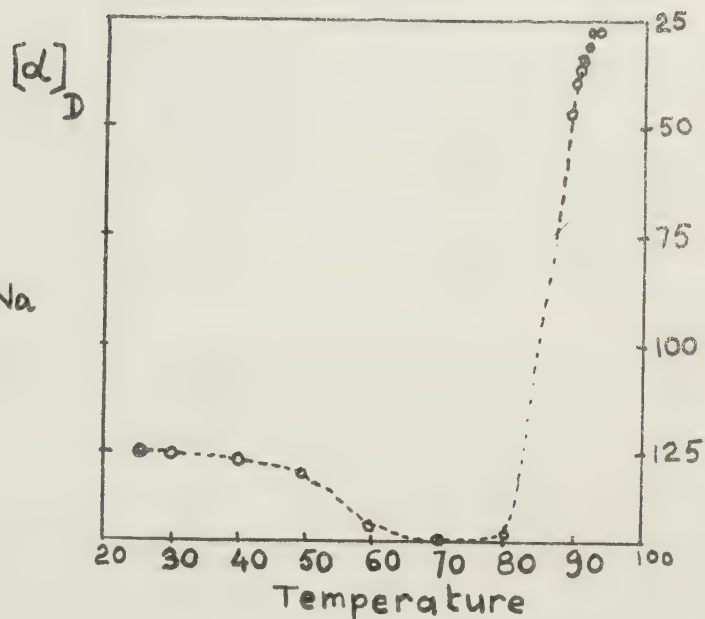






A.D.N. (Thymus deveau)
 solution dans
 0,15M NaCl, 0,015M Citrate Na
 pH 7

Fig.13



A.D.N (Thymus deveau)
 a) Natif à 30°C
 b) Dénaturé à 30°C
 c) Dénaturé à 95°C

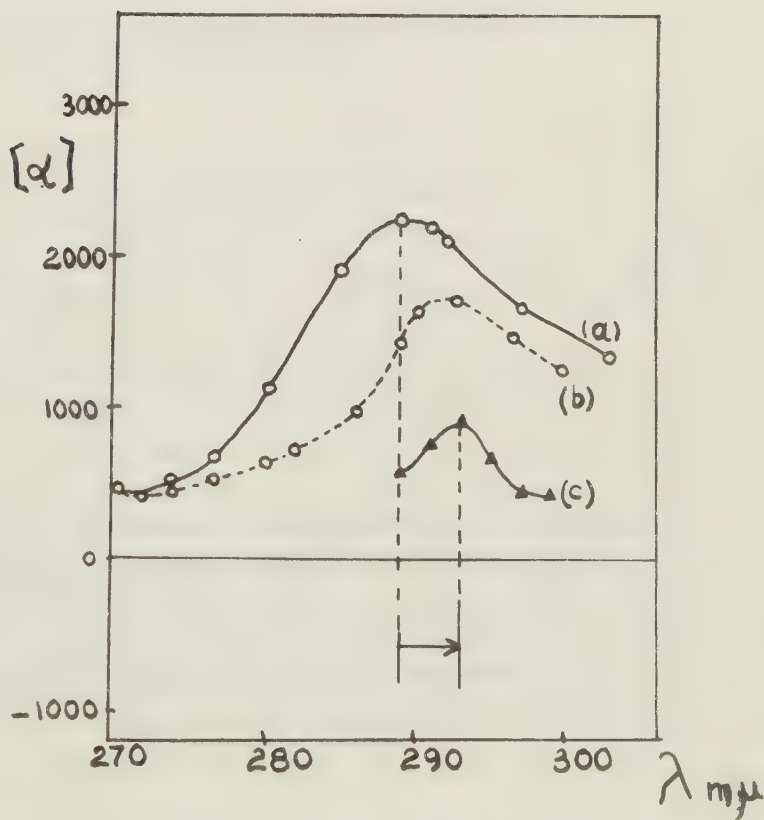


Fig.14

D'autres études comme la diffusion de la lumière conduisent à des conclusions qui permettent de présumer quelle est la forme de la macromolécule. Les résultats concernant la masse molaire M sont complétés par la recherche de la constante de sédimentation S .

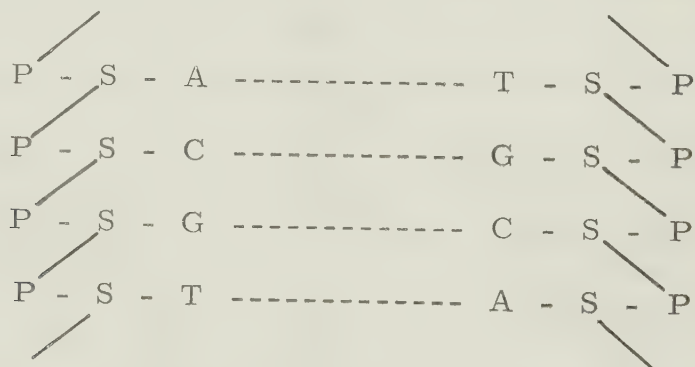
On peut dire avec C. L. SADRON que, dans une solution diluée d'A D N, l'élément moyen de macromolécule est contenu dans un cylindre d'environ 100 Å de longueur et 20 Å de diamètre, sa masse molaire étant de l'ordre de 20 000. Remarquons enfin que l'A D N est un polyélectrolyte du fait de la formation de sites portant des charges négatives réparties le long du filament, à l'emplacement des groupements phosphates.

2) Stéréostructure de WATSON et CRICK

A partir de déductions d'ordre génétique ayant trait à la recherche d'un codage (15) WATSON et CRICK ont proposé un modèle pour la molécule d'A D N qui se présentait comme un escalier hélicoïdal.

Les chaînes hélicoïdales sont constituées par les sucres S et les phosphates P (figure 15) tandis que les marches de l'escalier sont formées chacune par un couple de bases. Un fait extrêmement important est que les bases ne peuvent s'accoupler que suivant l'enchaînement : $A - T$ ou $C - G$

(A = Adénine, T = Thymine, C = Cytosine, G = Guanine)

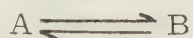


Si cette liaison est imposée, par contre l'ordre des bases le long d'une chaîne hélicoïdale est quelconque. Mais si cette distribution est aléatoire le long d'une chaîne elle impose une séquence bien précise pour la chaîne colatérale comme le montre le schéma ci-dessus.

Le couplage entre les bases s'effectue par liaisons hydrogène et on compte deux ponts hydrogène pour $A \cdots T$ et trois ponts pour $C \cdots G$.

Des travaux, dus à WILKINS et ses collaborateurs (16) et à FRANKLIN et GOSLING (17) ont montré qu'il existait deux diagrammes de rayons X suivant l'état d'humidité du gel d'A D N sous forme de sel de sodium. La forme cristalline appelée A correspond à 75 % d'humidité relative (ou une masse d'eau de 40 à 45 % de la masse sèche du désoxyribonucléate de sodium).

La forme paracristalline B (figure 15) est obtenue pour des humidités relatives supérieures à 75 %. On a montré aussi que le passage de la forme A à la forme B était réversible.



Plus récemment WILKINS a introduit deux autres formes cristallines désignées par B₂ et C (18 et 19). Comme la forme B existe en présence d'une très forte humidité, on a présumé qu'elle pouvait se conserver dans le cas des macromolécules en solution.

LUZZATI et ses collaborateurs (20 et 21) ont confirmé cette idée par la méthode de diffusion des rayons X aux petits angles. C'est pour la forme B que les paires de bases ont une direction perpendiculaire à l'axe de la double hélice. Dans la forme A elles sont inclinées de 20° par rapport à l'horizontale.

IV. BUT DE NOTRE TRAVAIL

En dehors des propriétés optiques et structurales, les propriétés physiques des acides nucléiques et de leurs composants sont encore peu connues. Il en est ainsi notamment pour les propriétés électriques. Nous avons cherché à combler cette lacune par diverses mesures. Nous avons d'abord étudié les phénomènes de transport de charge sous l'action d'un champ électrique en précisant le caractère semi-conducteur des produits étudiés.

Nous avons ensuite précisé le comportement diélectrique dans des conditions très diverses, en envisageant le cas des solides et le cas des solutions, ce dernier état étant le plus directement lié avec la structure de l'A D N in vivo.

Nous avons enfin mis en évidence la piézoélectricité de certains composants cristallisés, ce qui apporte notamment des indications sur les propriétés mécaniques de ces substances.

On peut espérer que ces expériences purement physiques, permettront d'orienter l'interprétation de certains phénomènes biologiques.

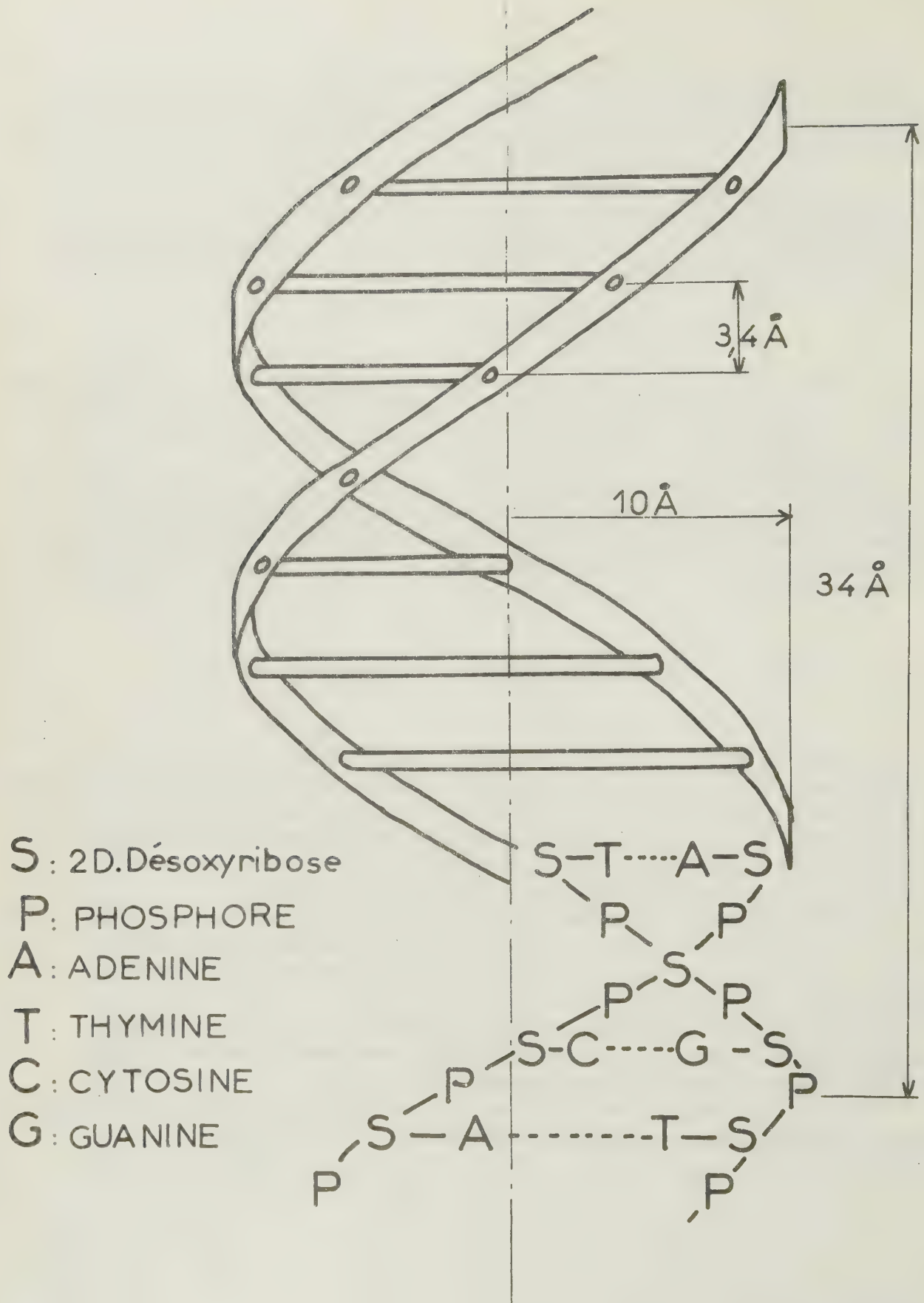


Fig.15

P R E M I E R E P A R T I E

SEMI-CONDUCTIBILITE DE L'A D N ET DES BASES PURIQUES ET
PYRIMIDIQUES DE L'A D N ET DE L'A R N

I. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

1) Remarques préliminaires.

Lors de nos premiers essais réalisés avec des échantillons de bases puriques et pyrimidiques sous forme de pastilles cylindriques, nous avons constaté que la résistivité de la pastille fraîchement pressée (voir plus loin fabrication des pastilles), était élevée mais néanmoins mesurable avec un galvanomètre ayant une sensibilité de quelques 10^{-11} A/mm en appliquant une centaine de volts sur l'échantillon placé en série avec le galvanomètre. Mais les poudres agglomérées sont alors plus ou moins humides. En soumettant les échantillons au vide 1^{air} ou 2^{air} nous avons constaté que la résistivité augmente de façon considérable. La mesure d'un courant à l'aide d'un galvanomètre devient impossible.

Il est alors nécessaire de faire appel à un dispositif de mesure électrométrique beaucoup plus sensible, pourvu d'un isolement et d'un blindage très soignés.

2) Dispositif de mesure électrométrique.

a) Principe (figure 16)

Une tension continue V est appliquée aux bornes de l'échantillon qui est placé en série avec une résistance étalon R_0 . Le très faible courant qui traverse la pastille passe aussi dans R_0 et crée une chute ohmique v entre ses bornes. On mesure v à l'aide d'un électromètre électronique possédant une impédance d'entrée très élevée (de l'ordre de $10^{15}\Omega$)

On a ainsi :

$$R_x = \frac{V - v}{v} R_0$$

R_x désignant la résistance de l'échantillon.

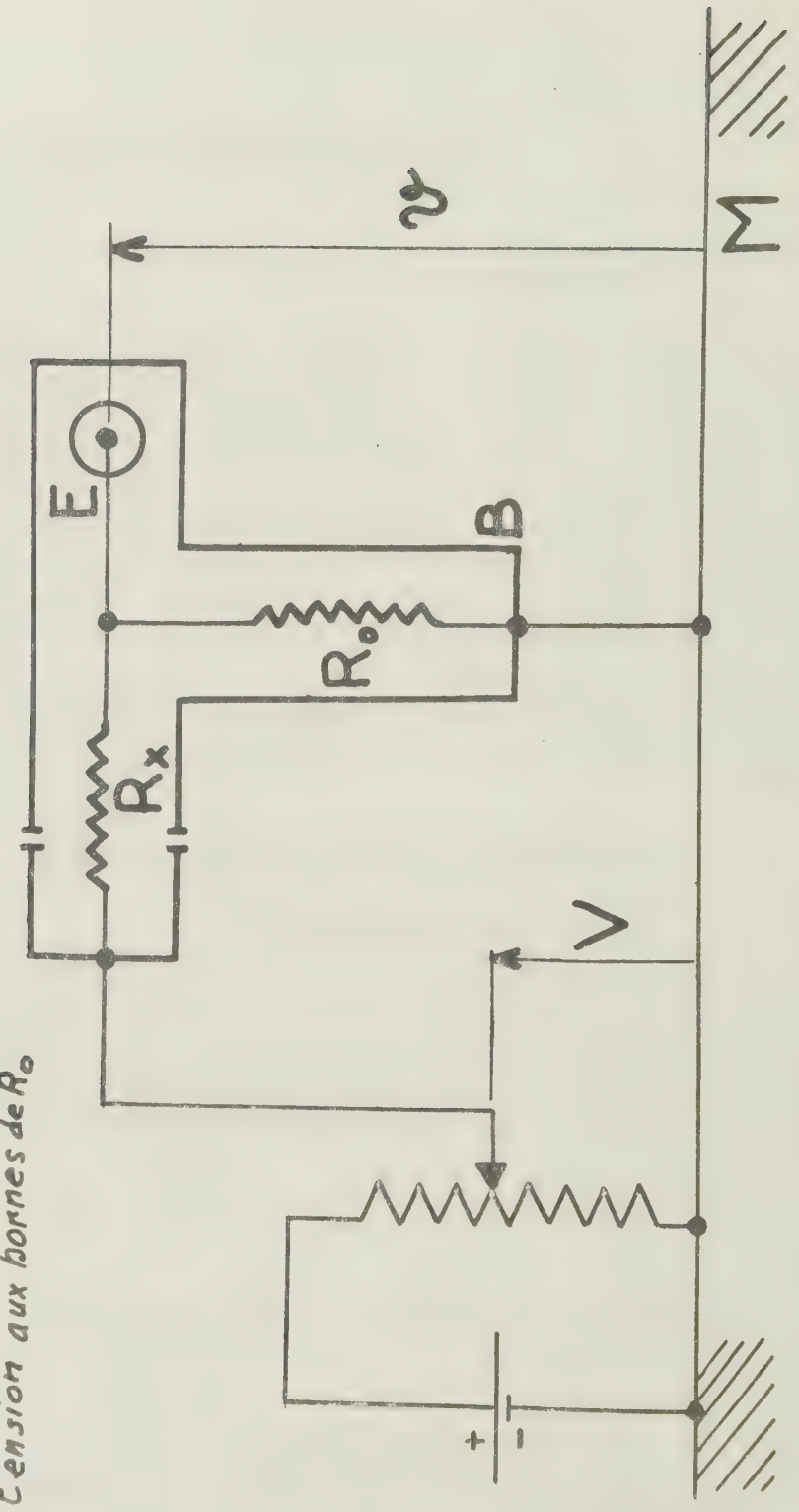
b) Réalisation pratique

Pour effectuer des mesures correctes en courant très faible, il faut prendre deux précautions essentielles :

1) Assurer un excellent isolement par rapport à la masse pour obtenir une résistance de fuite R_F de l'installation aussi élevée que possible ;

- B :** Blindage
E : Electromètre
M : Masse générale
R_x : Echantillon
R₀ : Résistance étalon
V : tension appliquée
 φ : tension aux bornes de R₀

Fig.16



Nous avons employé le quartz et le téflon comme isolant. Il faut éviter de placer du téflon aux endroits où l'on chauffe car sa résistivité peut baisser notablement lorsque la température croît. Nous avons utilisé du quartz fondu pour isoler les parties du dispositif susceptibles de se trouver dans le four de chauffage des échantillons.

2) Prévoir un blindage très soigné autour de l'échantillon, de la résistance R_0 , et de la sonde électrométrique. Ce blindage est relié à une borne masse générale. On évite ainsi de perturber les mesures par des phénomènes d'influence électrostatique extérieurs au système. L'électromètre employé (Larex) utilise un tube électromètre Mazda. Il possède une impédance d'entrée supérieure ou égale à $10^{15} \Omega$. Ce qui impose de choisir la résistance étalon R_0 au moins cent fois plus faible. De fait, la plus forte valeur de R_0 employée a été $10^{11} \Omega$ ce qui rendait négligeable le courant dérivé sur l'impédance interne de l'électromètre.

L'électromètre possède une alimentation stabilisée séparée, et on n'a procédé aux mesures qu'après 2 ou 3 heures de chauffage. D'autre part, nous avons effectué la correction de dérive du zéro au cours de chaque séance de mesures.

La tension V est fournie par des piles associées à un potentiomètre. Ce qui permet d'obtenir des tensions très stables depuis quelques volts jusqu'à 360 volts.

c) Cellule de mesure (+) figure 17

Elle comporte deux parties distinctes. Un tube cylindrique en acier inoxydable forme le blindage et un fil coaxial isolé sur téflon amène le point de haut isolement P vers l'échantillon.

Ce tube est emmanché sur le four électrique F à l'aide du joint torique J. A l'intérieur du four se trouve le porte-échantillon C isolé sur quartz fondu.

On peut ainsi faire le vide à l'intérieur de la cellule, chauffer celle-ci, et contrôler la température de l'échantillon à l'aide du thermocouple TH (Thermocoax). Le chauffage du four est effectué à l'aide d'un autotransformateur couplé à un transformateur qui permet de s'isoler du secteur alternatif. La forme du four et la position de l'échantillon dans celui-ci permettent d'atteindre l'équilibre thermique assez rapidement pour que l'on puisse effectuer une montée ou une descente de température avec une série de points de mesure en quelques heures.

(+) Nous tenons à remercier M. A. Dolce pour la contribution qu'il a apportée à la construction de cette cellule.

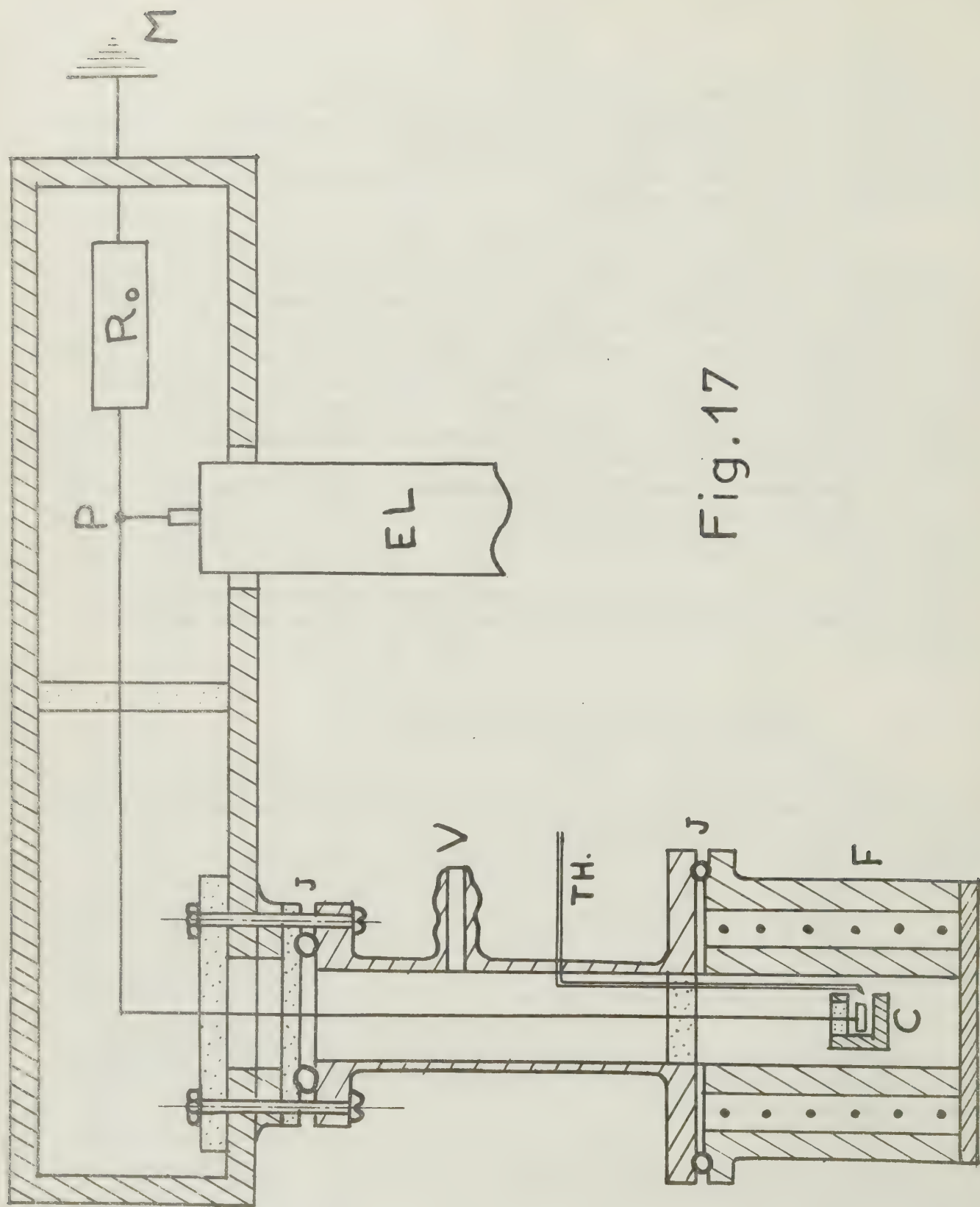


Fig. 17

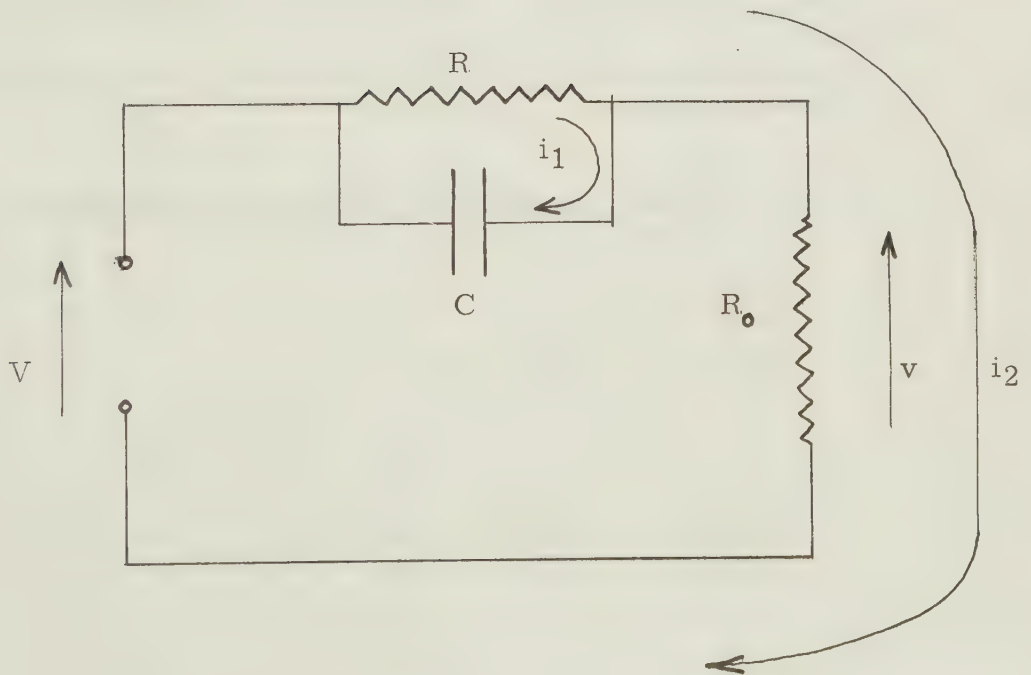
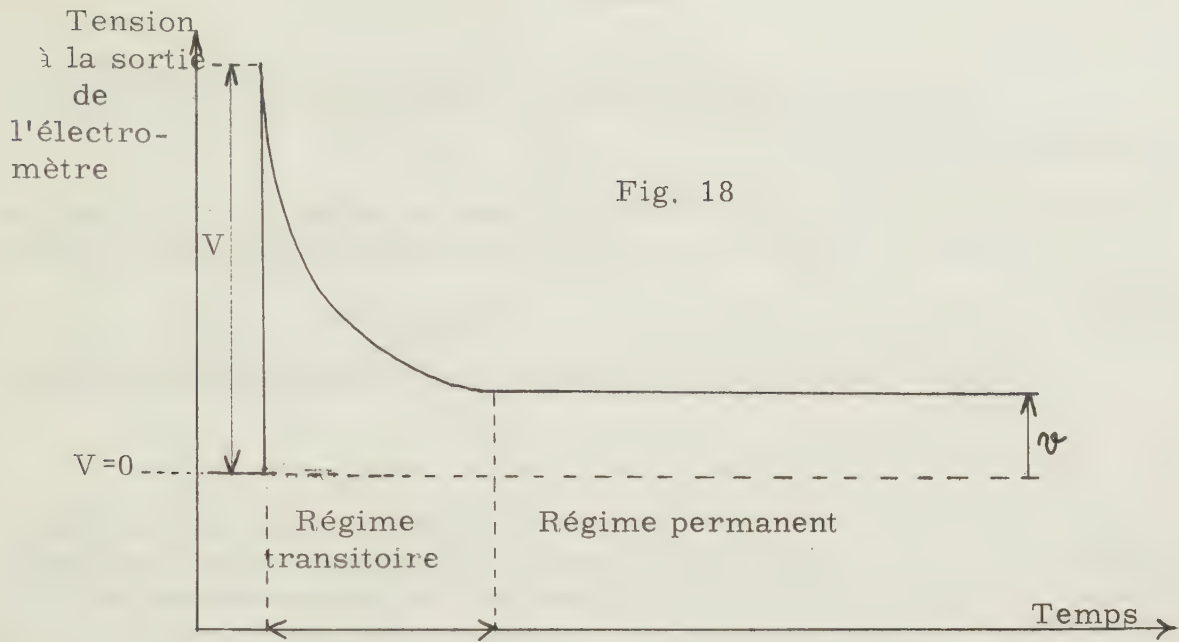


Fig. 19

d) Régime transitoire lors de l'application de la tension V sur un échantillon.

On peut suivre l'évolution de v au cours du temps en enregistrant la tension aux bornes de l'électromètre. Une sortie spéciale de l'électromètre le permet.

On distingue ainsi nettement deux régimes : (figure 18)

- un régime transitoire qui commence dès l'instant où l'on applique la tension
- un régime stable durant lequel v est constant.

Le régime transitoire provient en général de deux causes distinctes dont l'importance relative dépend du produit étudié. En premier lieu la décroissance d'allure exponentielle qui suit la montée très rapide provient de la décharge lente des capacités dans les résistances élevées du circuit. D'autre part on a pu mettre en évidence sur certains corps de grande résistivité une inertie empêchant l'établissement du courant constant après le régime transitoire normal dû aux capacités. (22) et (23)

Raisonnons sur le schéma simplifié de la figure 19 :

R et C schématisent la résistance et la capacité parallèle de l'échantillon.

R_0 est la résistance étalon dont on néglige en première approximation la capacité parallèle.

Avec les courants indiqués sur la figure on peut écrire :

$$(R + R_0) i_2 + R i_1 = V$$

$$R (i_1 + i_2) + \frac{1}{C} \int i dt = 0$$

soit :

$$R \left(\frac{di_1}{dt} + \frac{di_2}{dt} \right) + \frac{i_1}{C} = 0$$

$$i_2 = \frac{V}{R + R_0} - \frac{R}{R + R_0} i_1 = \frac{1}{R + R_0} (V - R i_1)$$

$$\text{d'où : } \frac{di_1}{i_1} = - \frac{R_0 + R}{R R_0 C} dt$$

$$\text{et : } i_1 = K. \exp \left(- \frac{R + R_0}{R R_0 C} t \right) \quad (1)$$

La condition initiale est :

$$\text{pour } t = 0 \quad V = R_0 i_2 \quad \text{ou} \quad i_2 = \frac{V}{R_0}$$

$$\text{L'équation (1) s'écrit : } \frac{V}{R_0} = \frac{V}{R + R_0} - \frac{R K}{R + R_0}$$

$$\text{d'où} \quad K = \frac{V}{R_0}$$

Et finalement :

$$i_2 = \frac{V}{R + R_0} \left[1 + \frac{R}{R_0} \exp\left(-\frac{R + R_0}{R R_0 C} t\right) \right]$$

L'électromètre mesure : $v = R_0 i_2$

On a donc :

$$v = \frac{V R_0}{R + R_0} \left[1 + \frac{R}{R_0} \exp(-\tau t) \right]$$

avec

$$\tau = \frac{R + R_0}{R R_0 C}$$

Si $t \longrightarrow \infty$

$$v \longrightarrow \frac{V R_0}{R + R_0}$$

On atteint pratiquement le palier au bout d'un temps fini mais non négligeable. Par exemple :

avec $R = 10^{15} \Omega$ $R_0 = 10^{10} \Omega$ $C = 10 \text{ pF}$

on a : $\tau = 10 \text{ secondes.}$

II. ETUDES ENTREPRISES - RESULTATS EXPERIMENTAUX

1) Remarques préliminaires

Nous avons étudié expérimentalement la semi-conduction du sel de sodium de l'Acide Désoxyribonucléique, et sur des bases puriques et pyrimidiques de l'A D N et de l'A R N (24).

En ce qui concerne l'A D N des mesures antérieures ont été effectuées par DUCHESNE et ses collaborateurs (25) et ELEY et SPIVEY (26). Les résultats de Duchesne et ses collaborateurs portent sur des acides désoxyribonucléiques pris dans un état d'humidité assez élevée, les mesures étant effectuées dans l'air sec, mais sans faire le vide. D'autre part, la source exacte du produit et son état de polymérisation n'étaient pas précisés. Les études entreprises par Eley et Spivey portent tout au contraire sur un produit complètement desséché, c'est-à-dire totalement dénaturé, les hélices simples pourront même avoir subi de nombreuses cassures. Nos expériences ont porté sur des acides désoxyribonucléiques dans un état initial non dénaturé

$\varepsilon(P) < 7000$ c'est-à-dire hautement polymérisés et comportant un pourcentage élevé de doubles hélices intactes (+). Pour ne pas trop abîmer cette structure initiale, nous avons choisi de ne pas trop dessécher et de ne pas chauffer les échantillons au dessus de 60 à 70° C. On sait qu'à partir de 80° C le produit se dénature ; Eley et Spivey chauffaient au-delà de cette limite (26).

Les échantillons d'A D N - Na ont été maintenus dans un vide dynamique de 5.10^{-2} Torr pendant toutes les mesures. Dans cet état il subsiste un pourcentage d'eau "liée" qui maintient l'A D N dans une structure quasi-cristalline.

Les résistances mesurées à la température ambiante sur des pastilles cylindriques de 1 mm d'épaisseur avec des électrodes de 1 cm de diamètre ne dépassent pas 10^{13} ohms. De ce fait les mesures électrométriques sont aisées et les corrections de résistance de fuite sont inutiles.

Par contre dès les premiers essais que nous avons effectués sur les bases puriques ou pyrimidiques, nous avons constaté que leur résistivité ρ était très élevée (ρ à 392° K compris entre 10^{15} et 10^{16} ohm. cm.)

(+) A D N préparé par le Dr Pouyet du Centre de Recherches sur les Macromolécules de Strasbourg.

Ainsi à la température ambiante certains échantillons ont une résistance bien supérieure à la résistance de fuite de l'installation R_F . Pour les échantillons les plus résistants on obtient des courbes ayant l'allure indiquée par la figure 20.

La résistance de fuite de l'installation R_F est placée en parallèle sur la résistance inconnue R_x . De la mesure de v on déduit R_m tel que

$$\frac{1}{R_m} = \frac{1}{R_F} + \frac{1}{R_x}$$

La résistance R_x de l'échantillon sera : $R_x = R_m (1 - R_m / R_F)^{-1}$

On commence à se dégager de l'influence de la fuite lorsqu'on a :

$$\frac{1}{T} < \frac{1}{T_F}$$

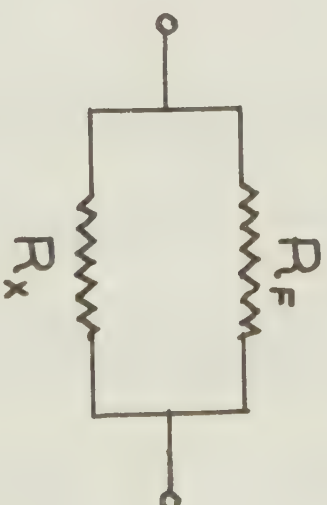
ce qui a lieu en pratique vers 70 à 80° C.

Toutes nos constantes de semi-conduction ont été calculées à la température repère de 392° K (on a alors $10^3 / T = 2,55$). Dans leurs études sur les protéines Eley et Spivey rapportent leurs constantes à 400° K. Récemment R. S. SNART (27) a opéré sur des sels de sodium d'A D N hautement polymérisés et séchés sous un vide de 10^{-6} Torr. Le chauffage ne dépassant pas 75° C on gardait dans ces expériences l'A D N dans un état proche de l'état natif (sous réserve d'une valeur convenable du $\xi(P)$ au départ). Cet auteur trouve une énergie d'activation $E = 2,43$ eV.

Enfin, C. Y. LIANG et E. C. SCALCO ont montré les premiers (28) qu'il existait une photoconduction dans le sel de sodium d'A D N à l'état solide et complètement sec.

2) Préparation des échantillons

Les substances organiques que nous étudions se présentent sous forme de poudres micro-cristallines ou de fibres (sel de sodium de l'ADN). On obtient les échantillons sous forme de pastilles cylindriques adaptées aux mesures en comprimant ces poudres dans des matrices cylindriques sous des pressions variant entre 50 et 500 Kg/cm².



x points expérimentaux
 • points corrigés

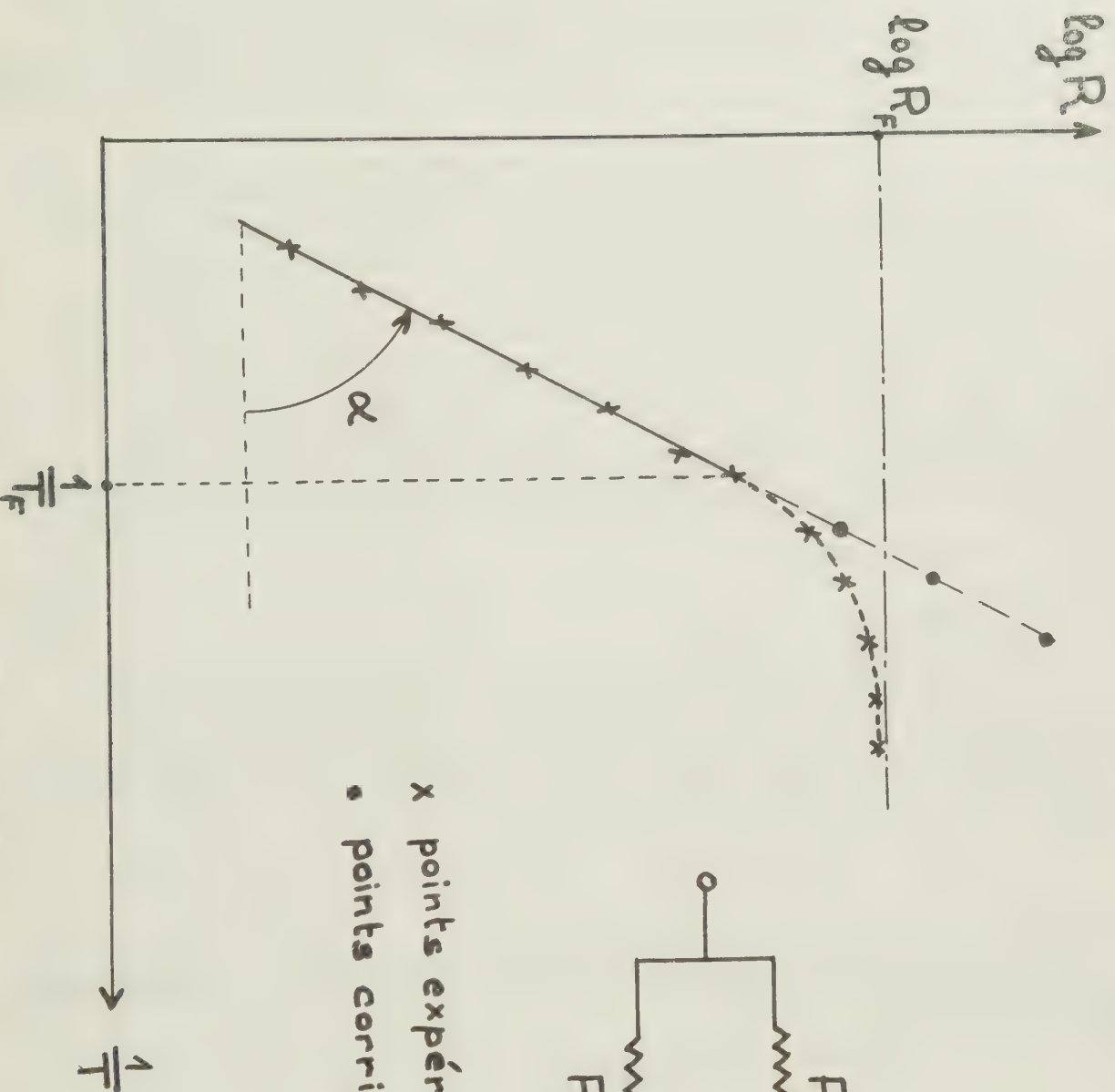


Fig. 20

Le diamètre des échantillons était de 12 mm ou 6 mm ; leur épaisseur était comprise entre quelques dixièmes de mm et plusieurs millimètres. Les pastilles sont homogènes du fait de la plasticité de ces matériaux organiques avec cependant une certaine porosité ; on y a donc enfermé de l'air dans un état hygrométrique indéterminé.

C'est pourquoi, par la suite, pour obtenir des résultats reproductibles, il faut placer l'échantillon dans le vide ou dans une atmosphère contrôlée.

Les pastilles ont été étudiées en tant que résistances ou condensateurs électriques. Il était nécessaire de construire des cellules spéciales pour insérer les pastilles qui ne pouvaient être métallisées. La forme des cellules varie suivant la fréquence de travail et l'atmosphère dans laquelle se trouve plongé l'échantillon. Il faut éviter que le contact électrode-substance introduise des effets parasites tels que le potentiel de contact ou l'oxydation des électrodes avec altération des produits. Pour le désoxyribonucléate de sodium, seules les électrodes en platine ou en acier inoxydable conviennent. Les bases puriques et pyrimidiques peuvent être insérées entre des électrodes de laiton poli.

3) Notations

Les graphiques traduisant nos résultats sont tracés en portant en abscisse $1/T$ (T en degrés K) et en ordonnée le logarithme de base 10 de la résistance R de l'échantillon. Nous avons obtenu des droites, de sorte que la conductivité σ est donnée en fonction de la température par la formule classique :

$$\sigma = \sigma_0 \exp (- E / 2 k T)$$

Chaque échantillon étant défini par le rapport existant entre sa surface et son épaisseur

$$\xi = \frac{S \text{ (cm}^2\text{)}}{e \text{ (cm)}}$$

sa résistivité ρ en $\Omega \cdot \text{cm}$ et sa conductivité σ en $\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ seront déterminées à partir de la résistance R par les relations ;

$$\rho = \xi R \quad \text{et} \quad \sigma = \rho^{-1}$$

L'énergie d'activation E déterminée expérimentalement à partir de la pente p des droites, sera exprimée en électron. volts. Avec les unités employées on a sensiblement :

$$E_{\text{eV}} = 2,96 \cdot p$$

Nous considèrerons couramment les résultats obtenus à la température repère $T = 392^\circ\text{K}$. On a alors $1/T = 2,55$ et nous utiliserons les notations :

$$R_{392} \quad \rho_{392} \quad \text{et} \quad \sigma_{392}$$

4) Etude du sel de sodium de divers acides désoxyribonucléiques

On a opéré sur des échantillons fibreux hautement polymérisés. Des dosages du phosphore organique ont permis de calculer le $\mathcal{E}(P)$ des divers échantillons ; dans tous les cas on avait $\mathcal{E}(P) < 7000$.

Des pastilles obtenues en comprimant les fibres finement hachées de sel de sodium d'ADN avaient un diamètre de 12 mm.

Nous avons porté dans le tableau 1 les résultats des essais pour des sels de sodium d'ADN extraits de thymus de veau (V22 B1, V22 B2, V22 B3) et d'érythrocyte de poulet (E P1)

On a noté ρ_a et σ_a la résistivité et la conductivité à la température ambiante (25°C), pour divers états des pastilles. Les échantillons V22 B1, V22 B2, V22 B3, ont subi un dessèchement partiel et progressif dans un vide dynamique de $5 \cdot 10^{-2}$ Torr. L'échantillon EP1 a été séché en vase clos pendant trois jours en présence de CaO sec.

La résistivité des ADN croît à partir de l'état primitif (avant dessèchement) jusqu'à une valeur limite, qui est celle de l'échantillon stabilisé dans l'atmosphère considérée. ρ_a et σ_a sont alors notées ρ_a^s et σ_a^s . Sur les figures 21, 22, 23, 24 et 25, nous montrons les courbes traduisant l'évolution de $\log R$ en fonction de $1/T$ au cours de chauffages et de refroidissements successifs. au-dessus de la température ambiante.

On constate au cours de ces essais qu'à partir du 5ème ou 6ème refroidissement l'échantillon se trouve stabilisé c'est-à-dire que le 7ème chauffage et le 7ème refroidissement donnent des droites qui se superposent.

TABLEAU 1

Echantillons d'ADN	V22 B1	V22 B2	V22 B3	E P 1
$\rho_a (\Omega.cm)$ avant vide	$4,2.10^9$	3.10^9	$8,7.10^8$	
$\sigma_a (\Omega^{-1}.cm^{-1})$ avant vide	$2,4.10^{-10}$	3.10^{-10}	$1,1.10^{-9}$	
$\rho_a (\Omega.cm)$ après 3 h de vide laire		$1,37.10^{10}$	$6,2.10^9$	
$\sigma_a (\Omega^{-1}.cm^{-1})$ après 3 h de vide laire		$0,73.10^{-10}$	$1,6.10^{-10}$	
$\rho_a^s (\Omega.cm)$ échantillon stabilisé	4.10^{11}	$6,8.10^{10}$	4.10^{10}	
$\sigma_a^s (\Omega.cm)$ échantillon stabilisé	$0,25.10^{-11}$	$0,15.10^{-10}$	$0,25.10^{-10}$	
E(ev) échantillon stabilisé	2,0	2,18	2,18 - 2,22	1,90
$\sigma_o (\Omega^{-1}.cm^{-1})$ échantillon stabilisé	10^5	$7,5.10^7$	4.10^7	10^6
 cm	6,5	9,8	8,7	1,35
pression de matricage en Kg/cm ²	300	300 maintenue pendant 5'	50	500
Etat biophysicochimique	non dénaturé $\xi(P) < 7000$	non dénaturé $\xi(P) < 7000$	non dénaturé $\xi(P) < 7000$	légèrement dénaturé $\xi(P) = 7500$

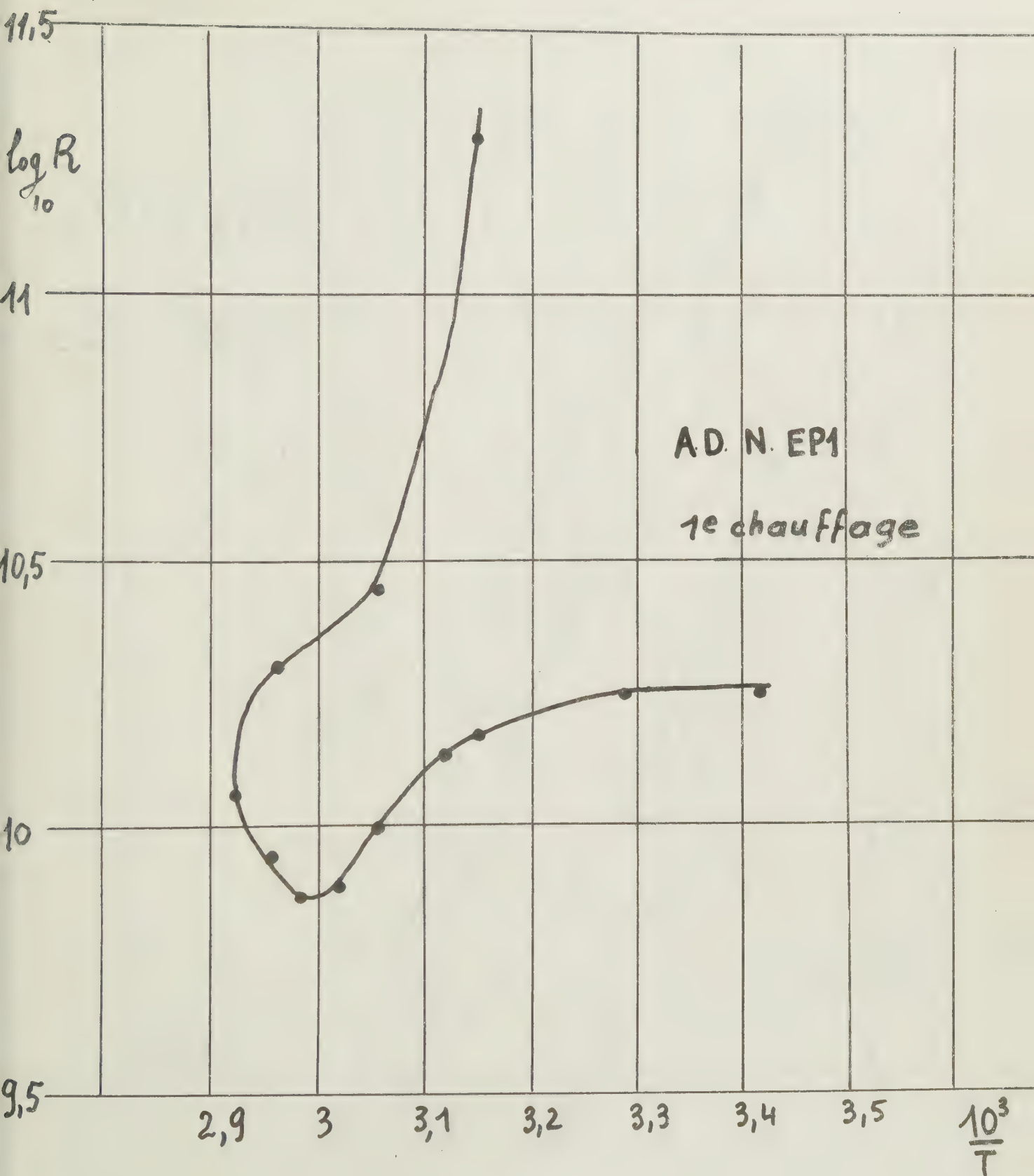
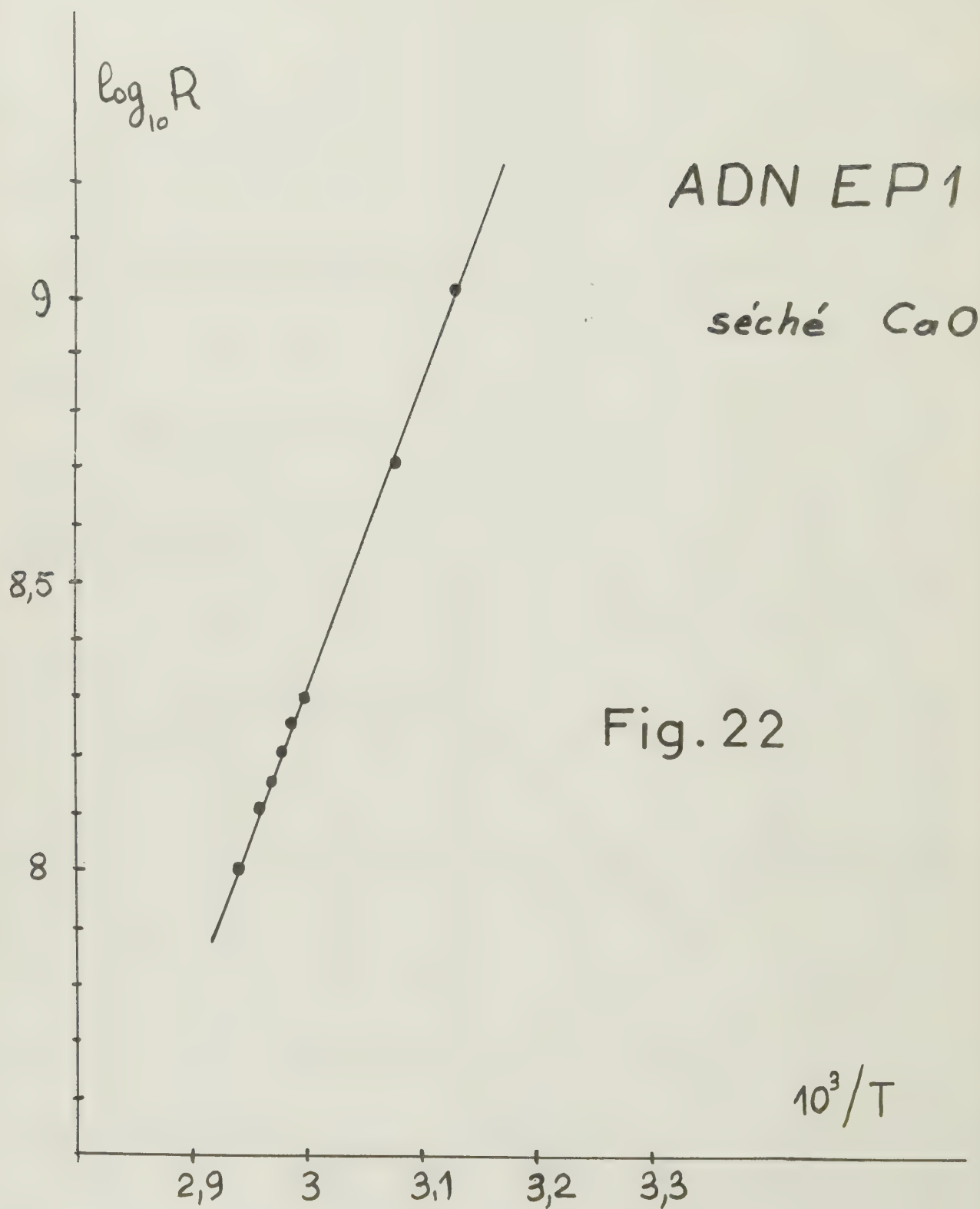


Fig. 21



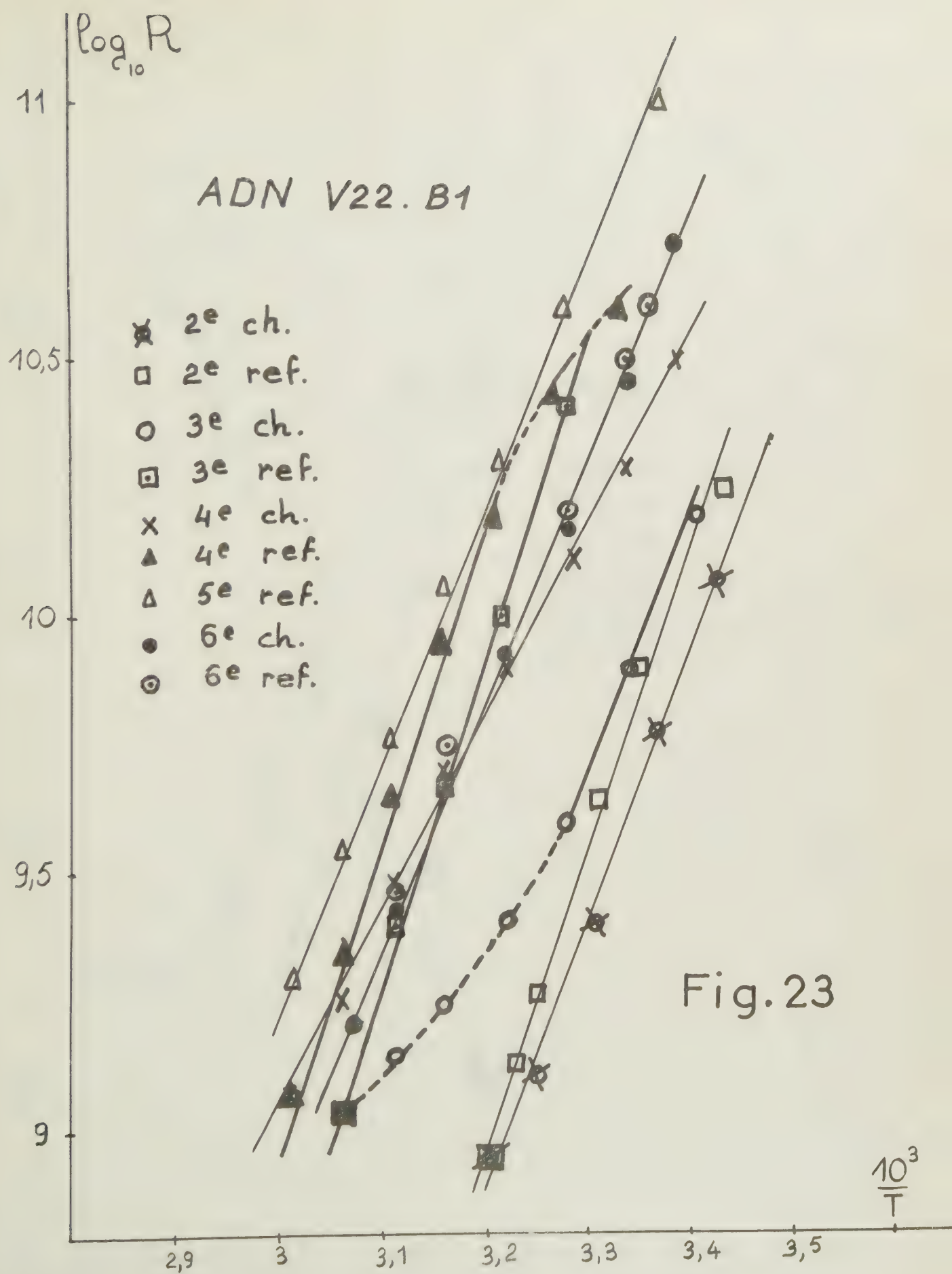
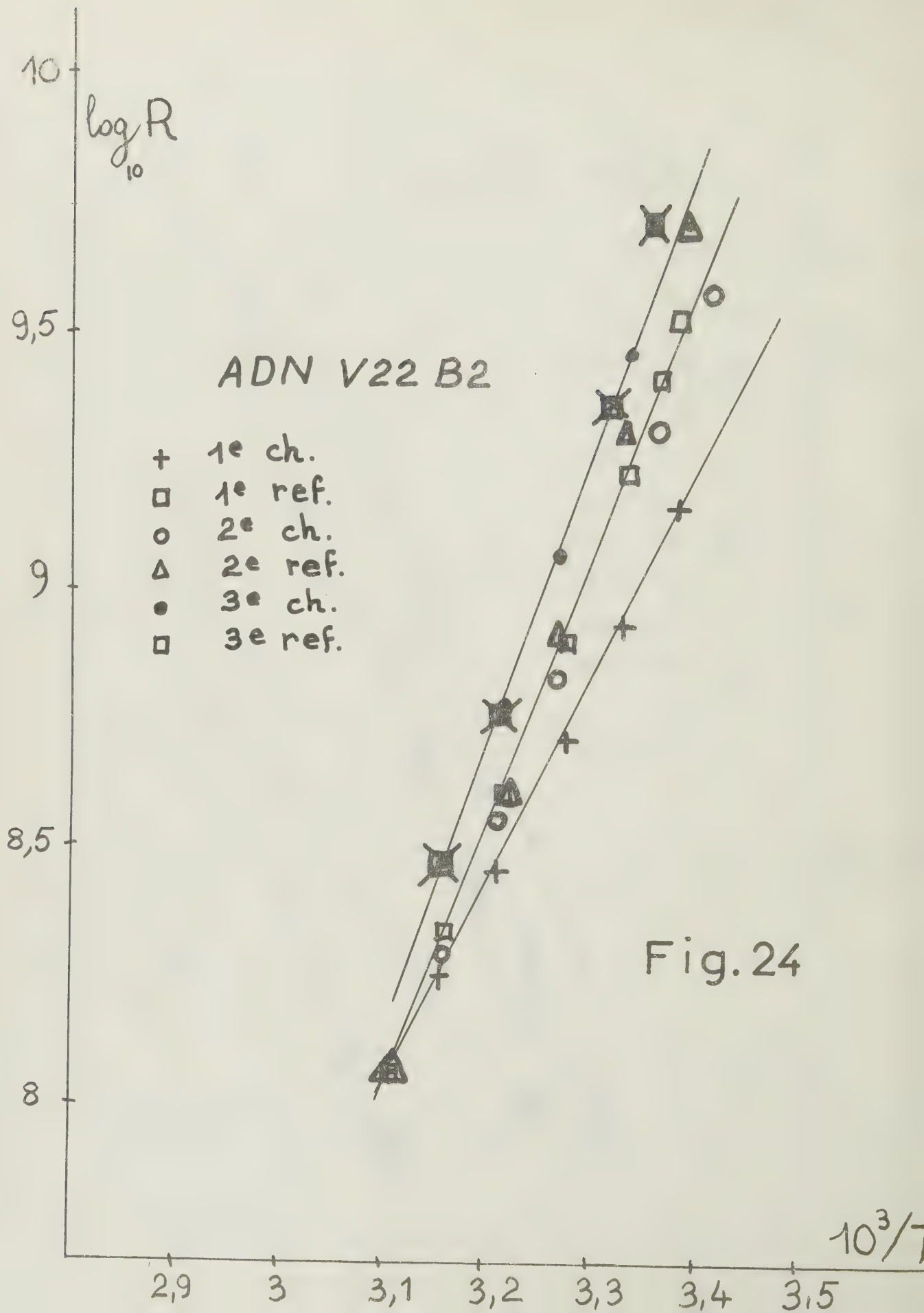


Fig. 23



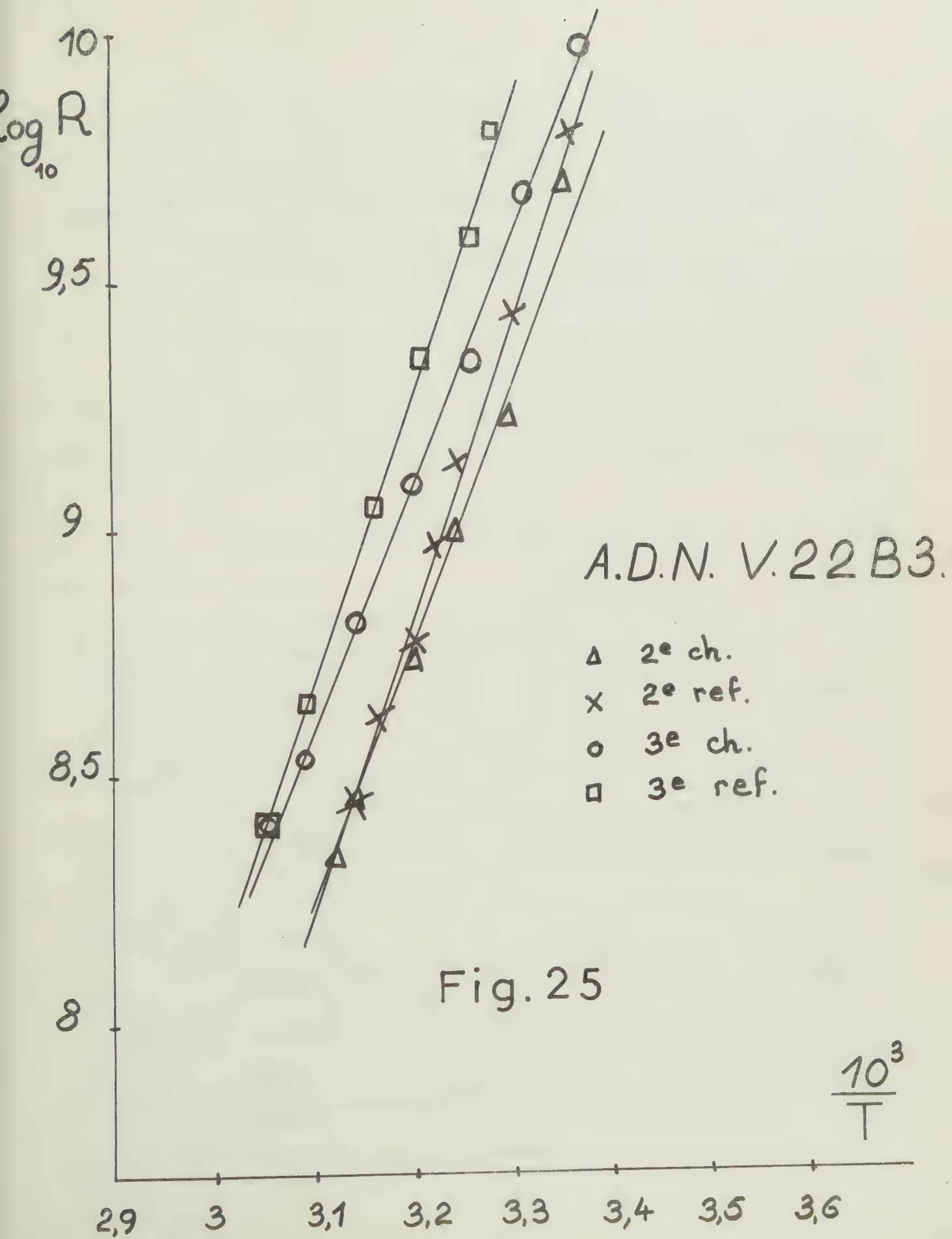


TABLEAU 2

Origine	Phase	Etat hygro- métrique	Pression en Kg/cm ²	E moyen en eV	Nature des élec- trodes	$\bar{\sigma}_0$ moyen en $\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$	Réfé- rences
Thymus de veau	fibres	air sec	non comprimé	1,8	cuivre		25
Sperme de hareng	poudre	air sec	700	1,8	cuivre	10^8	25
Thymus de veau non dénaturé	gel solide	vide de 10^{-6} Torr		2,44	platine	$6 \cdot 10^2$	27
Thymus de veau	gel solide	Oxygène sec		1,27	platine	$4 \cdot 10^4$	27
Thymus de veau déna- turé	fibres	vide de 10^{-6} Torr		2,42	platine		26
Thymus de veau non dénaturé	fibres	vide de $5 \cdot 10^{-2}$ Torr	50 et 700	2 à 2,2	acier inox platine	$5 \cdot 10^7$	24
Enythrocyte Poulet $\varepsilon(P) = 7500$	fibres	séché CaO 3 jours	500	1,90	acier inox platine	10^6	24

Avant d'atteindre cet état stable les pentes des droites de chauffage sont moins fortes que les pentes des droites de refroidissement. On peut expliquer ce comportement de la façon suivante. Au cours d'un chauffage (avant stabilisation de l'échantillon) les fibres d'ADN-Na perdent de l'eau puis, au cours du refroidissement qui suit, elles gardent le même pourcentage d'eau liée.

Eley et Spivey (26) signalent que la présence d'eau dans un échantillon organique tend à abaisser la valeur de l'énergie d'activation. En comparant nos résultats à ceux des autres auteurs, nous constatons que cette hypothèse est bien confirmée.

La valeur moyenne de l'énergie d'activation que nous trouvons pour un acide désoxyribonucléique structuré très vraisemblablement conformément au modèle de Watson et Crick est comprise entre les valeurs signalées pour divers ADN étudiés sous forte humidité ou sous vide poussé (10^{-6}) Torr. Remarquons enfin que l'ADN traité par l'oxygène (27) conduit à une énergie d'activation de 1,27 eV. (Voir tableau 2)

5) Etude des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN et de l'ARN

Introduction :

Les bases puriques et pyrimidiques sont les éléments les plus simples et les mieux connus du point de vue biochimique par mi les composants des acides nucléiques. L'étude de leur semi-conductibilité pose de nombreux problèmes tant au point de vue expérimentaux que théoriques. Nous nous attacherons essentiellement à l'étude expérimentale en essayant toutefois de rattacher ce travail aux théories existant actuellement. Etant donné la difficulté d'obtenir des monocristaux nous avons opéré sur les poudres micro-cristallines agglomérées sous forme de pastilles.

D. D. Eley et R. B. Leslie ont donné des indications très sommaires sur la conductibilité de ces substances (29). Ils signalent avoir obtenu des conductivités de l'ordre de $10^{-15} \Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 400°K. Ces auteurs soumettaient leurs échantillons à un vide de 10^{-6} Torr.

Résultats expérimentaux :

Nous avons employé la cellule de mesures associée au dispositif électrométrique déjà décrit.

Le dessèchement préalable a été réalisé sous un vide de $5 \cdot 10^{-2}$ Torr l'influence de l'humidité est ainsi complètement éliminée. D'autre part, les bases se subliment facilement, il faut éviter un chauffage excessif. Cette sublimation étant d'autant plus intense que le vide est plus élevé, nous avons évité de faire un vide très poussé dans la cellule de mesure.

Par ailleurs, les résistivités des bases étant considérables à la température ambiante, il faut un chauffage suffisant pour mettre en évidence la semi-conductibilité. Les produits utilisés proviennent tous de la Calbiochem (Los Angeles, California).

Nous avons fait varier la pression de matricage des poudres entre 50 Kg/cm² et 200 Kg/cm². Aucune relation nette entre cette pression et la conductivité des échantillons n'apparaît. Aussi nous avons adopté pour les conductivités σ et σ_0 des valeurs moyennes sans tenir compte de la pression.

Phénomènes annexes :

La loi d'Ohm est suivie dans le domaine des champs électriques appliqués sur les pastilles (0 à 5000 volts/mètre).

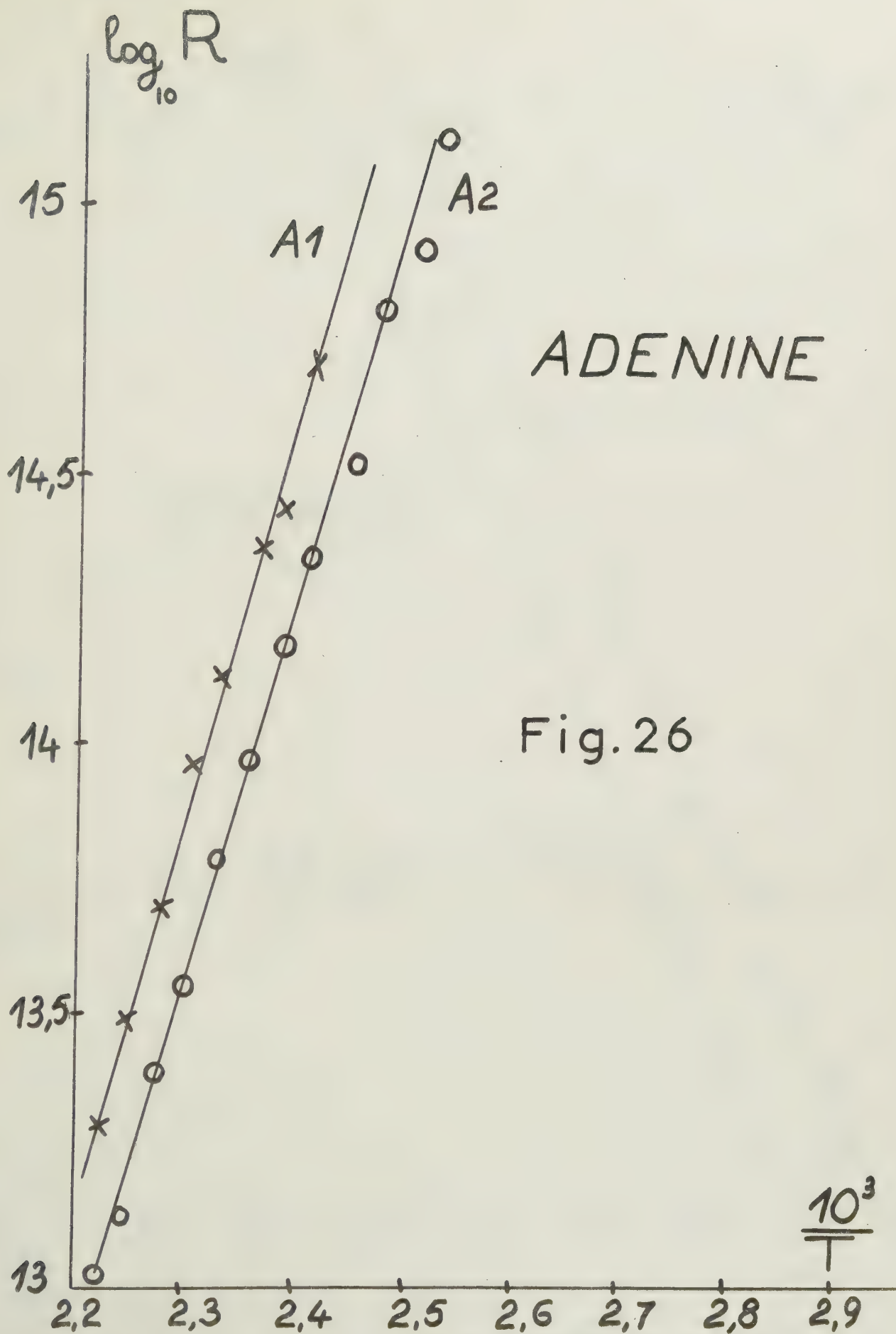
Aucun effet de charge d'espace notable n'est apparu ; l'influence de l'épaisseur des pastilles sur la résistivité est normale. Enfin nous avons opéré avec des électrodes de diverses matières et diverses pressions de serrage des échantillons. Aucune influence dépassant la limite des erreurs expérimentales ne se manifeste. Nous avons constaté notamment l'absence de toute attaque chimique avec des électrodes en laiton poli ou en acier inoxydable poli.

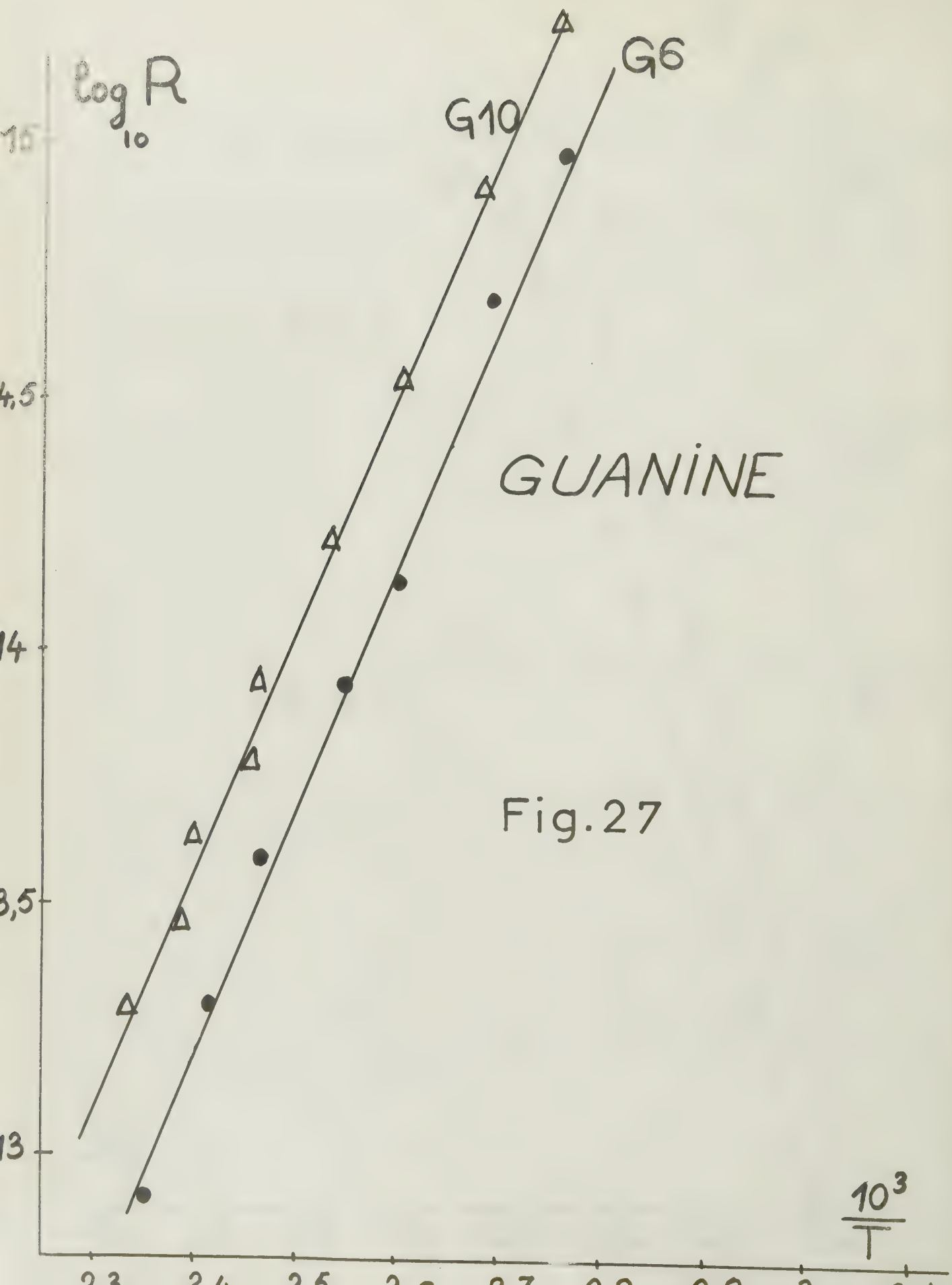
Mise en évidence de la semi-conductivité :

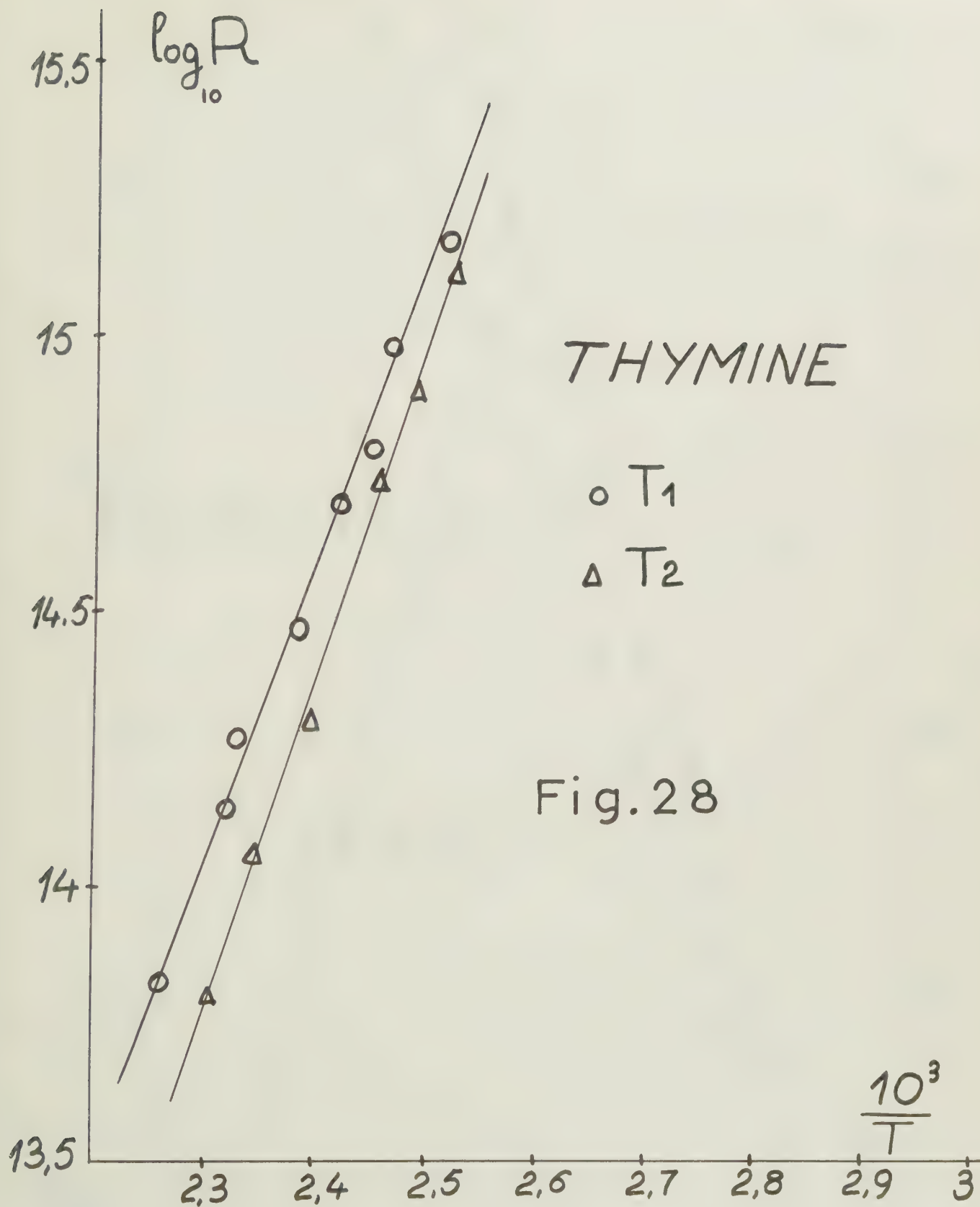
Lorsqu'un échantillon a été convenablement stabilisé par élimination de l'humidité, les résultats expérimentaux sont en accord avec la loi classique :

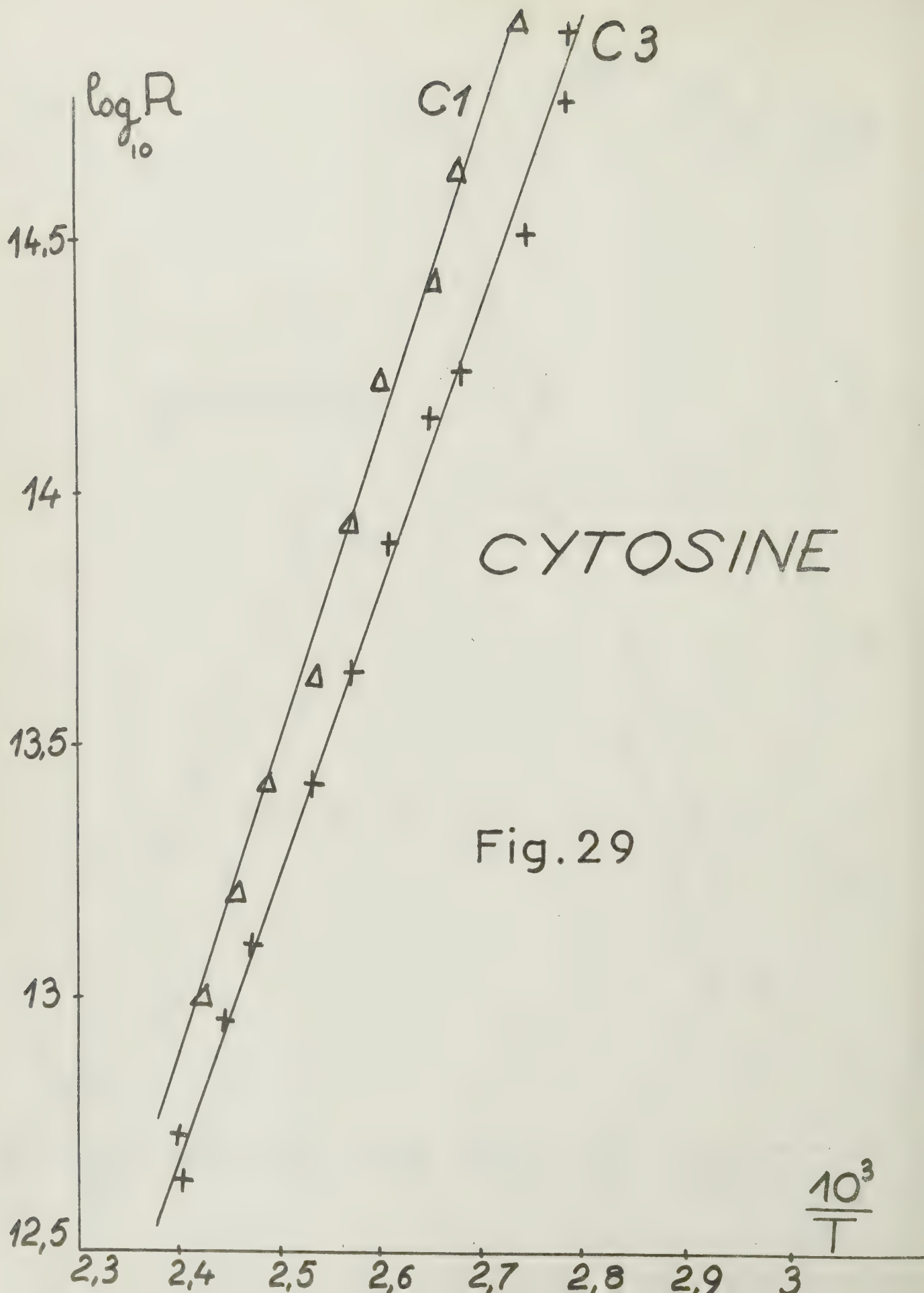
$$\sigma = \sigma_0 \cdot \exp (- E / 2 k T)$$

Les courbes obtenues en chauffant ou en refroidissant les bases au-dessus de la température ambiante, sont pratiquement superposables, et les pentes sont sensiblement reproductibles. Les graphes correspondant aux diverses bases sont représentés sur les figures 26, 27, 28, 29 et 30. Sur l'énergie d'activation E, l'erreur absolue est de l'ordre de $\Delta E = 0,06$ à $0,07$ eV pour chaque échantillon. Dans le tableau n° 3 nous donnons l'ensemble des valeurs moyennes de E, $\log \sigma_0$ et ρ_{392} obtenues pour les cinq bases. Le tableau donne en outre d'autres indications, à savoir le nombre d'électrons Π pour chaque base et la variation Δm du coefficient $m = \alpha - E / \beta$, intervenant dans la théorie des orbitales moléculaires (méthode L C A O) qui permet de calculer les niveaux énergétiques accepteurs et donneurs d'électrons. Les valeurs de m sont celles qui ont été calculées par B et A. Pullman (30), nous y revenons dans l'interprétation de nos résultats.









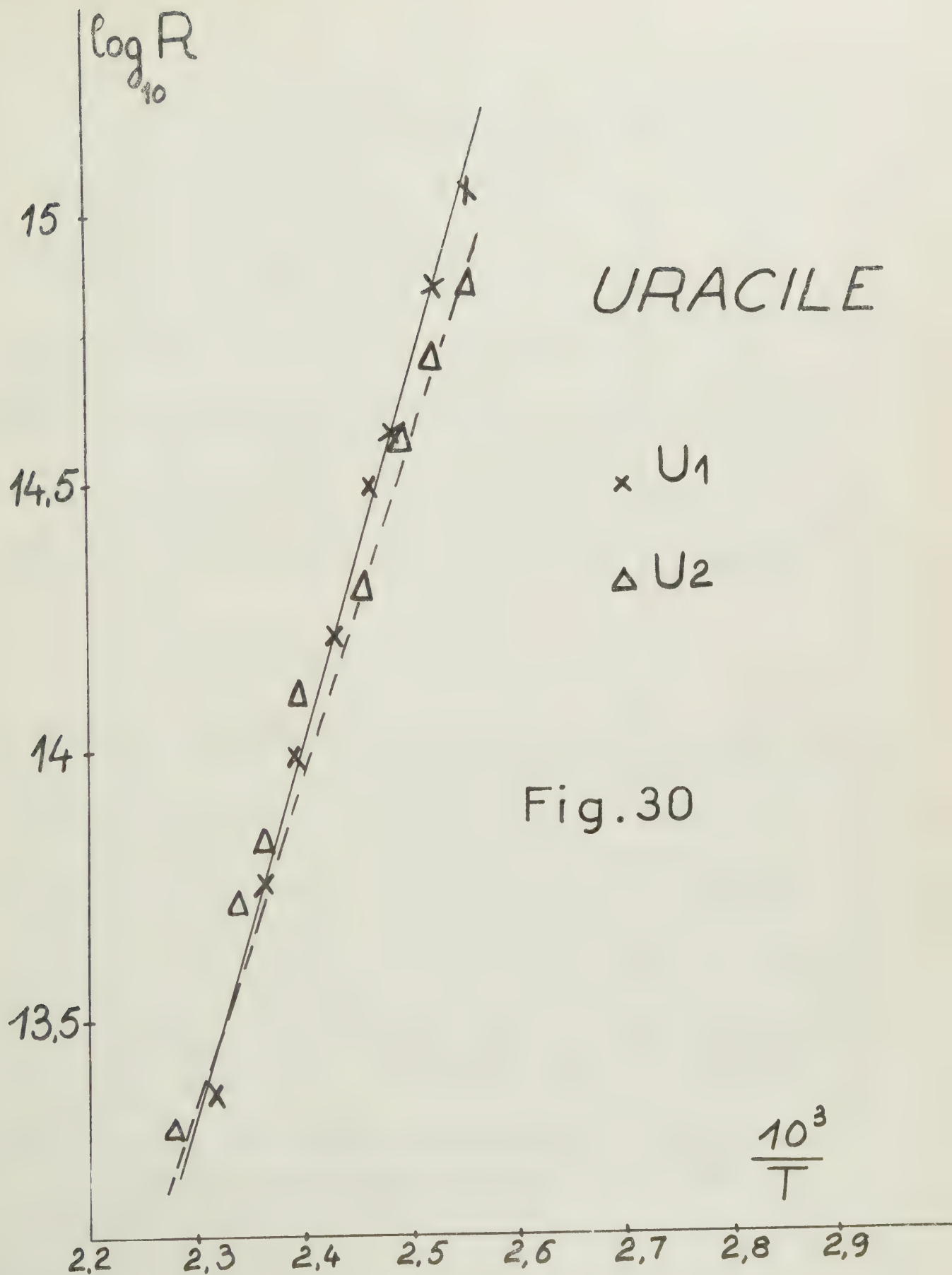


TABLEAU 3

BASE	E (eV)	$\log \sigma_0 (\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	$\rho_{392} (\Omega \cdot \text{cm})$	Nombre d'élec- trons π	Δ_m
CYTOSINE	2,4	0,85	$3,5 \cdot 10^{14}$	10	1,39
GUANINE	1,96	$\overline{3},5$	$9 \cdot 10^{14}$	14	1,36
URACILE	2,72	1,5	$8,5 \cdot 10^{15}$	10	1,56
ADENINE	2,6	0,5	$1,2 \cdot 10^{16}$	12	1,35
THYMINE	2,4	$\overline{1},4$	$1,7 \cdot 10^{16}$	12 ou 10 (+)	1,47

(+) suivant que l'on tient compte ou non de l'hyperconjugaison.

III. ESSAI D'INTERPRETATION THEORIQUE DES RESULTATS

A. BASES PURIQUES ET PYRIMIDIQUES

1) Nature de la semi-conductibilité

Lorsque la loi $\sigma = \sigma_0 \cdot \exp(-E / 2 k T)$ est vérifiée expérimentalement on ne peut en déduire ipso facto que la conduction est de nature électronique. Cette expression générale peut aussi traduire une conduction ionique. Cependant, aucun des effets qui accompagnent d'ordinaire la conduction ionique n'apparaissant, on peut penser que la conduction que nous avons mise en évidence est bien due à des électrons, ou des trous. Une base plus sûre pour cette hypothèse résulterait de mesures de photoconduction ou d'effet thermoélectrique.

Dans une interprétation de cette conductibilité par un modèle de semi-conduction intrinsèque classique, la bande de valence serait séparée de la bande de conduction par une bande interdite de l'ordre de 2 eV.

2) Mécanisme de la conduction

a) Théorie d'Eley et Parfitt (31)

On sait que la plupart des molécules organiques conjuguées comprennent un squelette formé par les atomes reliés entre eux par les liaisons dues aux électrons σ . Le long de cette ossature peuvent se mouvoir des électrons plus labiles appelés π . Une conduction de nature électronique fait intervenir les électrons π .

Eley et Parfitt ont simplifié à l'extrême en considérant les molécules à liaisons conjuguées linéaires et cycliques comme de simples puits de potentiel pour les électrons.

Développons le calcul relatif à la chaîne linéaire, les électrons étant supposés libres mais confinés sur la longueur a où règne un potentiel constant pris égal à zéro.

L'existence de noeuds de la fonction d'onde aux extrémités impose la relation $a = k \lambda / 2$ λ étant la longueur d'onde associée à la fonction d'onde.

On a $\lambda = \frac{h}{p}$ avec $p = mv$ h étant la constante de Planck

D'où $p = k \frac{h}{2a}$ et l'énergie est : $E = \frac{p^2}{2m} = k^2 \frac{h^2}{8ma^2}$

m étant la masse de l'électron et V sa vitesse.

Si on envisage une transition d'un niveau correspondant au nombre quantique k vers le niveau $k + 1$, la variation d'énergie est

$$\Delta E = E_{k+1} - E_k = \frac{h^2}{8 m a^2} (2k + 1)$$

Pour une molécule de n électrons (n pair), d'après le principe de Pauli les $n/2$ premiers niveaux sont occupés et les transitions effectives correspondent à $k = n/2$

$$\text{D'où } \Delta E = \frac{h^2}{8 m a^2} (n + 1)$$

En posant $a = n l$ où l est la longueur de la liaison C-C voisine de $1,39 \text{ \AA}$.

$$\text{On peut encore écrire } \Delta E = \frac{h^2}{8 m l^2} \cdot \frac{n + 1}{n^2}$$

Pour un cycle de longueur a on trouve

$$\Delta E = \frac{h^2}{4 m a^2} \cdot n = \frac{h^2}{4 m l^2} \cdot \frac{1}{n}$$

Eley et Parfitt considèrent ensuite que l'énergie d'activation E de la conductibilité doit être égale à ΔE . On doit donc obtenir en fonction de n suivant que l'on a affaire à des molécules linéaires ou cycliques les énergies d'activation

$$E^L = 19,5 \cdot \frac{n + 1}{n^2} \text{ (en eV)}$$

$$\text{ou } E^C = 39 \cdot \frac{1}{n} \text{ (en eV)}$$

Si l'on représente le graphe $E = f(n)$ on obtient deux courbes d'allure hyperbolique l'une valable pour la chaîne linéaire l'autre pour le cycle. La figure 31 représente ce graphe sur lequel nous avons placé les énergies d'activation trouvées expérimentalement en fonction du nombre d'électrons de chaque base. Pour la Thymine on fait intervenir 12 ou 10 électrons Π suivant que l'on tient compte ou non de l'hyperconjugaison.

On constate que les points expérimentaux se placent entre les deux courbes calculées et que la corrélation est bonne.

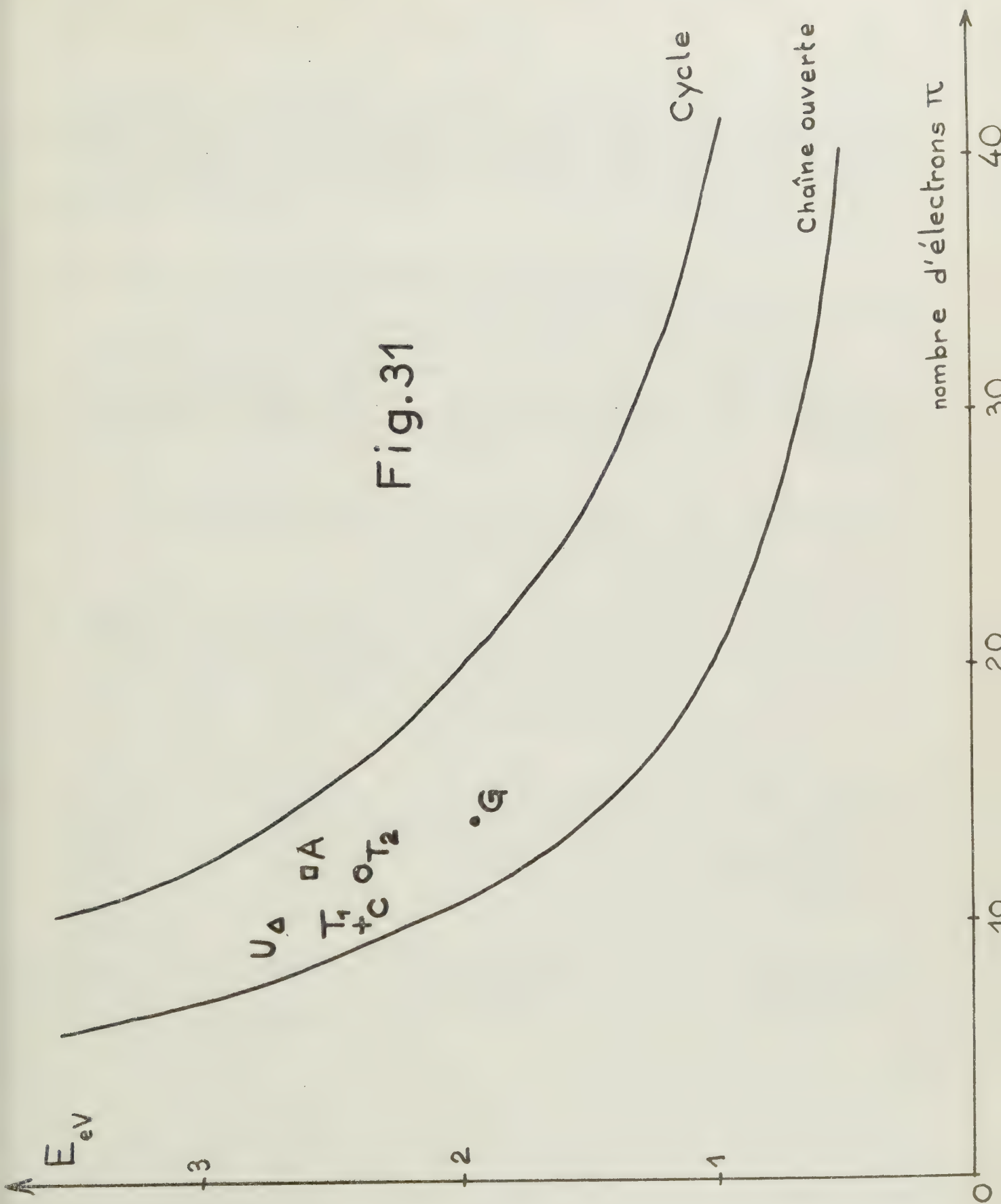


Fig.31

Ainsi l'uracile qui possède le plus petit nombre d'électrons π et la Guanine le plus grand, se placent bien comme ayant la plus grande et la plus petite des énergies d'activation prévues théoriquement. Cette théorie est toutefois beaucoup trop schématique en particulier elle ne tient pas compte de la structure cristalline.

b) Comparaison avec les résultats du calcul des niveaux énergétiques par la méthode L. C. A. O.

La méthode des orbitales moléculaires (32) permet d'obtenir les niveaux d'énergie des électrons π avec une meilleure approximation. B. et A. Pullman (30) ont développé les calculs. Cette méthode conduit, dans l'approximation de Pauling et Wheland, à écrire les niveaux d'énergie sous la forme :

$$E = \alpha + m \beta$$

Où α et β sont des constantes (α est l'intégrale de Coulomb et β l'intégrale de résonance). A chaque niveau est associée une valeur de m .

Les $m > 0$ correspondent aux niveaux occupés.

Les $m < 0$ correspondent aux niveaux vides.

Dans le tableau 4 nous donnons les valeurs m_0^H et m_v^B de m correspondant au niveau d'énergie occupé le plus élevé E_0^H et au niveau vide le plus bas E_v^B pour les bases puriques et pyrimidiques et la variation correspondante Δm .

TABLEAU 4

Base	m_0^H	m_v^B	Δm
CYTOSINE	0,595	- 0,795	1,39
GUANINE	0,307	- 1,050	1,36
URACILE	0,597	- 0,960	1,56
ADENINE	0,486	- 0,865	1,35
THYMINE	0,510	-0,958	1,47

Sur la figure 32 nous montrons la corrélation qui existe entre Δm et les valeurs de E et $\log \sigma_0$ que nous avons trouvées expérimentalement. Une certaine corrélation est obtenue, mais il n'y a pas de relation étroite car là encore nous ne tenons pas compte du mode de transfert des électrons d'une molécule à l'autre.

c) Transfert d'électrons par les liaisons H.

Nous avons déjà signalé (24) un fait intéressant concernant la résistivité des bases à 392°K. Si l'on examine le tableau 3, on voit qu'il y a :

- 1) une base purique et une base pyrimidique relativement conductrices : la cytosine et la guanine (C et G)
- 2) une base purique et deux bases pyrimidiques plus isolantes : l'adénine, la thymine, et l'uracile (A, T et U).

Cette constatation resterait banale si l'on ne savait par ailleurs que le couplage des bases dans l'ADN et l'ARN est précisément A-T ou A-U et C-G.

Le couplage C-G se fait grâce à trois liaisons hydrogène, tandis que les couplages A-T et A-U sont réalisés par deux ponts hydrogène, comme le montrent les figures 33 et 34. (33) et (34).

Si l'on considère maintenant le solide cristallin formé par une base, on peut supposer que les molécules y sont reliées entre elles par des ponts hydrogène. Cette hypothèse est confirmée par l'expérience dans le cas de l'uracile, dont l'étude structurale par diffraction des rayons X a été faite par G. S. Parry (35).

La conduction de molécule à molécule, se ferait par transfert de charges et à travers des ponts hydrogène. La notion de transfert de charge introduite par SZENT-GYORGYI (36) se précise ici. On peut logiquement supposer que les liaisons hydrogène reliant les molécules entre elles dans le solide cristallin sont plus nombreuses ou plus fortes dans le cas de la guanine et de la cytosine que dans celui de l'adénine, de la thymine et de l'uracile.

Les résultats expérimentaux obtenus sur les bases montrent une concordance avec ceux qui concernent la semi-conductibilité des ribonucléosides. Le tableau 5 indique les valeurs de E et de $\log \sigma_0$ publiées par D. D. Eley et R. B. Leslie (29).

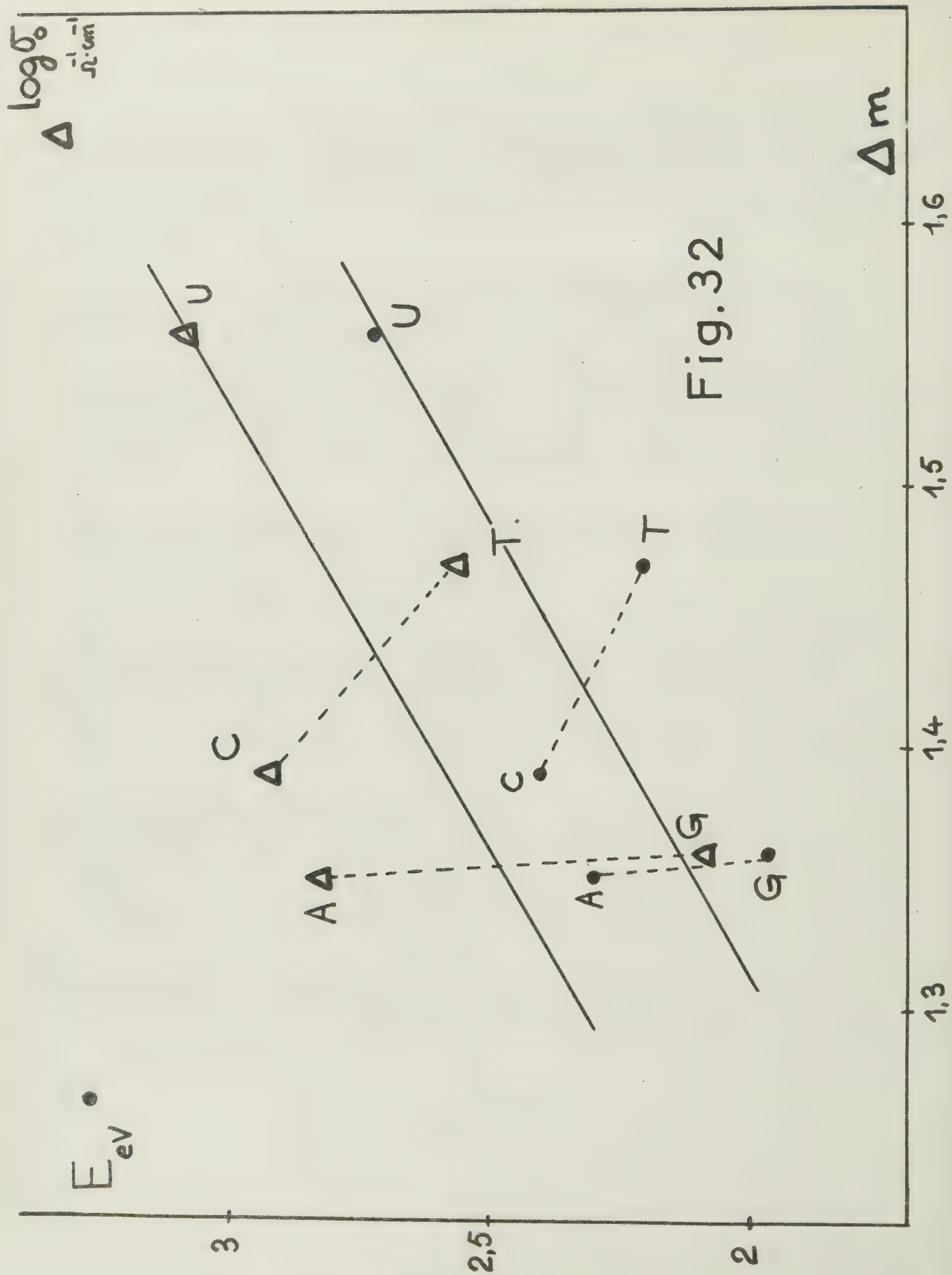


Fig.32

Nous avons ajouté les valeurs de $\log \sigma_{392}$ et de $\log \rho_{392}$ calculées d'après les autres données afin de pouvoir effectuer la comparaison avec les valeurs que nous avons obtenues pour les bases.

A chaque base purique ou pyrimidique nous faisons correspondre le ribonucléoside correspondant :



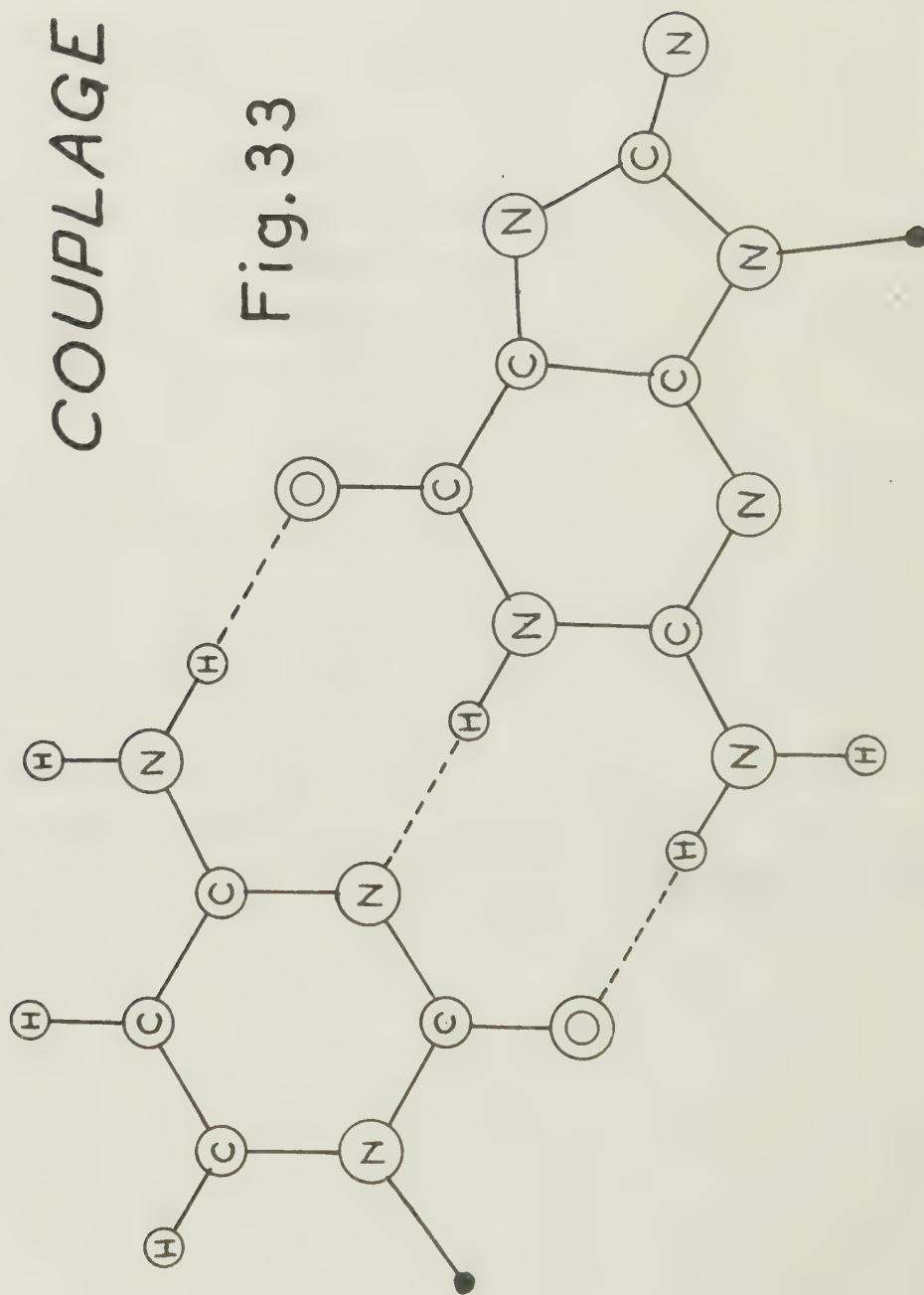
TABLEAU 5

Ribonucléoside	Valeurs publiées		Valeurs calculées	
	E (eV)	$\log \sigma_0 (\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	$\log \sigma_{392} (\Omega^{-1} \cdot \text{cm}^{-1})$	$\log \rho_{392} (\Omega \cdot \text{cm})$
CYTIDINE (R-C)	4, 9	19, 4	$\overline{12}$	12
GUANOSINE (R-G)	2, 1	2, 6	$\overline{11}, 1$	10, 9
URIDINE (R-U)	5, 2	22	$\overline{12}, 6$	11, 4
ADENOSINE (R-A)	4, 5	15	$\overline{14}$	14
THYMIDINE (R-T)	4, 7	17, 4	$\overline{13}, 2$	12, 8

On constate que le groupe R-G et R-C est moins résistant que le couple R-A et R-T, de même que le couple G-C était moins résistant que le couple A-T. L'uridine seule fait exception.

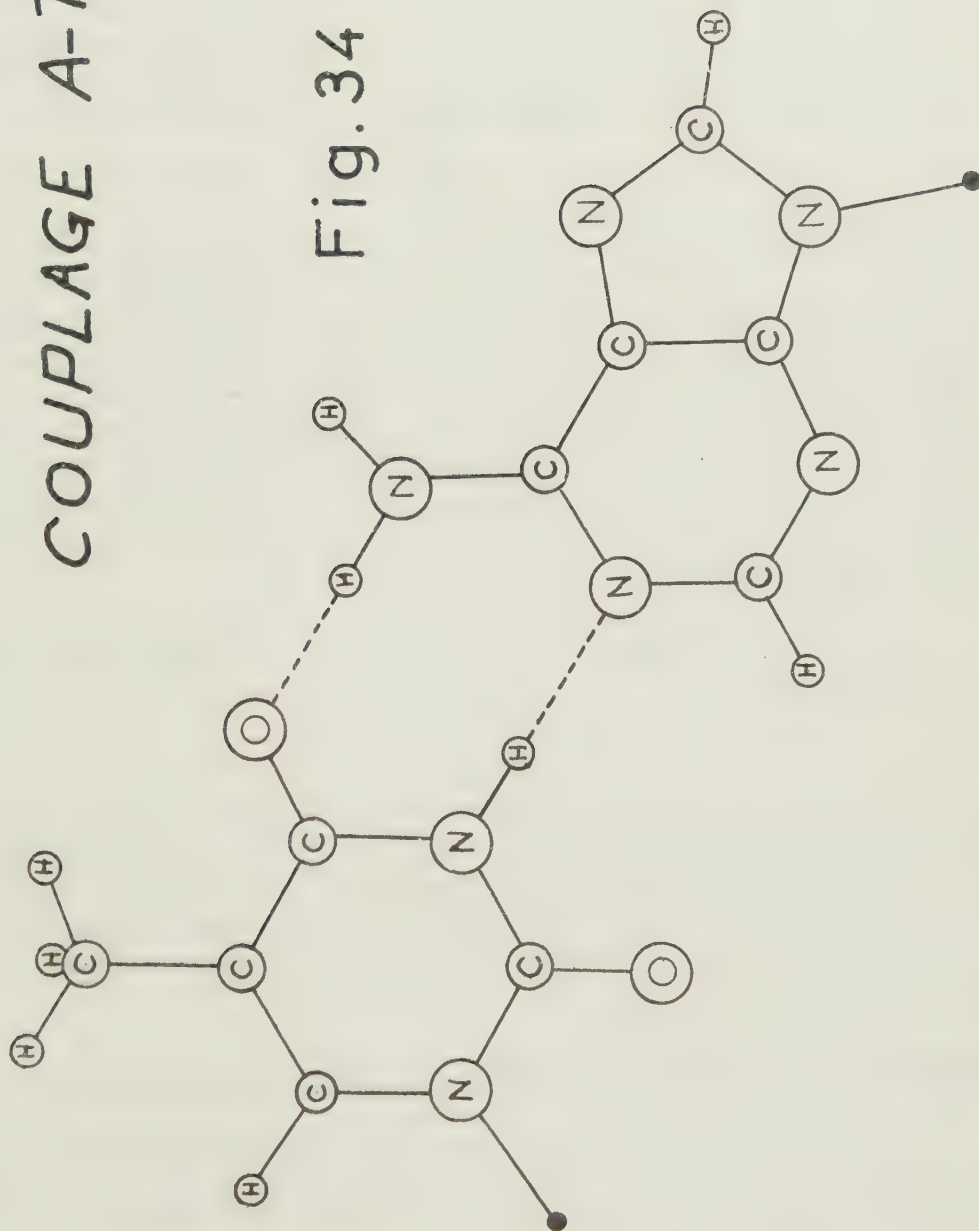
COUPLAGE C-G

Fig. 33



COUPLAGE A-T

Fig. 34



B. SEMI-CONDUCTIBILITE DE L'ADN

L'interprétation de la semi-conduction de l'ADN est difficile. Il faut distinguer les résultats obtenus dans le vide poussé, dans l'air plus ou moins humide et dans une atmosphère donnée. Pour un ADN complètement desséché et fortement chauffé, et par suite dénaturé, les divers auteurs (27, 28 et 26) trouvent une énergie d'activation moyenne de l'ordre de 2,4 eV.

Nous avons trouvé $2 < E < 2,2$ eV tandis que dans l'air ambiant avec un certain pourcentage d'eau liée, E décroît jusque vers 1,8 eV. Il est certain que la structure est influencée par l'humidité, mais le mécanisme lui-même doit varier, une conduction ionique étant certainement présente sous forte humidité. La conduction électronique a été avancée sans fortes preuves par Eley et Spivey. Pour le produit sec, nous n'avons pu mettre en évidence dans ce cas, aucune polarisation des électrodes, ce qui serait aussi en faveur de cette hypothèse, mais les expériences de photoconduction de Liang et Scalco (28) sont plus significatives à cet égard. Ces auteurs ont opéré sous vide poussé et chauffé l'ADN jusque vers 130°C (le produit était donc vraisemblablement dénaturé). Le photocourant observé variant en fonction de la température suivant la loi :

$I = I_0 \exp \left(- E_p / K T \right)$, l'énergie d'activation pour la photoconduction étant

$$E_p = 0,89 \text{ eV}$$

$E_\mu = 2 E_p$ serait l'énergie que doivent posséder les charges pour franchir les barrières de potentiel existant dans le solide. C'est une fraction importante de l'énergie E de la conduction ordinaire. Liang et Scalco attribuent cette forte valeur de E_μ à des barrières de potentiel existant entre les hélices voisines de l'ADN, qui limitent les transferts électroniques.

Hypothèse d'un transfert de charge suivant l'axe de l'hélice

La disposition des plans des bases perpendiculairement à l'axe de l'hélice de Watson et Crick est favorable à un transfert électronique axial, les orbitales des électrons π de deux bases superposées ayant un recouvrement appréciable.

Il est alors possible d'envisager deux sortes de transitions électroniques à l'extérieur de la molécule.

a) Les transitions $\pi \rightarrow \pi^*$ qui s'effectuent dans le plan de deux bases couplées. Les énergies de la plus haute orbitale occupée seraient alors d'après B. et A. Pullman (30), caractérisées par les valeurs suivantes de m_H :

couplage A-T	0,425
couplage G-C	$\left\{ \begin{array}{l} (2 \text{ liaisons H}) : 0,308 \\ (3 \text{ liaisons H}) : 0,288 \end{array} \right.$

b) Les transitions $n \rightarrow \pi^*$ le long de l'axe de l'hélice, précisées notamment par Ladik et Tinoco (37) et (38).

L'hypothèse d'un transfert électronique orthogonal au plan des bases peut expliquer le rôle de l'eau liée. Les molécules d'eau intercalées entre les plateaux des bases serviraient de voie de transfert et, de ce fait, l'énergie d'activation se trouverait abaissée conformément à l'expérience.

DEUXIEME PARTIE

RESONANCES PIEZOELECTRIQUES

I. BUT DE L'ETUDE

1) Rappel sommaire concernant la piézoélectricité

Le phénomène de piézoélectricité (effet "direct") consiste en l'apparition de charges électriques sur les faces d'un cristal soumis à des tensions mécaniques. Il a été découvert par les frères Curie dès 1882. Le cas le plus connu est celui du quartz ; la déformation du réseau cristallin entraîne la création d'un moment électrique d'où apparition de charges de signes contraires sur les faces opposées.

Ce phénomène a sa réciproque, c'est l'effet piézoélectrique "inverse". La piézoélectricité doit apparaître en principe, pour tous les cristaux dont la maille ne présente pas de centre de symétrie. Mais cette condition nécessaire n'est pas absolument suffisante et il convient que l'expérience vienne confirmer l'hypothèse dans chaque cas particulier. L'effet piézoélectrique traduit le couplage qui existe entre les phénomènes mécaniques et électrostatiques ; son étude est importante en vue de l'évaluation des constantes mécaniques des cristaux, ainsi que pour l'interprétation d'autres propriétés liées à la structure.

2) Recherche de la piézoélectricité

Les propriétés piézoélectriques sont faciles à mettre en évidence lorsqu'on dispose de monocristaux de grande taille, comme on sait les obtenir par exemple avec le quartz, le sel de Seignette, ... Cependant l'obtention de gros monocristaux est généralement délicate. Aussi faut-il disposer de moyens de détection de la piézoélectricité convenant à des poudres. Ce problème s'est posé pour nos substances biologiques.

Les acides nucléiques se présentent (pour un état hautement polymérisé) sous l'aspect de fibres plastiques, et la notion de cristal doit alors être entendue dans un sens large. Mais les bases puriques et pyrimidiques ainsi que les nucléosides associés se présentent sous forme de poudres microcristallines.

Les études entreprises par diffraction des rayons X montrent que les mailles cristallines ne possèdent pas de centre de symétrie (39) Cette dissymétrie est surtout très grande dans le cas des nucléosides pour lesquels le plan du sucre (D. Ribose ou 2 D-Désoxyribose) est généralement perpendiculaire au plan du cycle purique ou pyrimidique. Ceci est rigoureux dans le cas de la cytidine (figure 35), comme l'a montré S. Furberg (40).

CYTIDINE

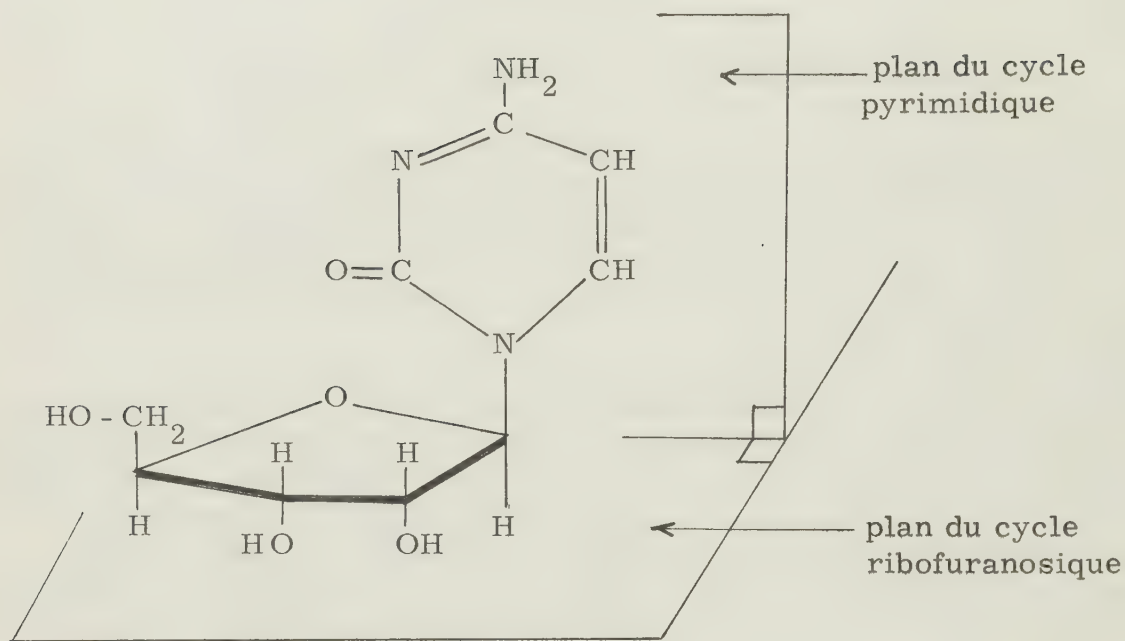


Figure 35

D'une manière générale la mise en évidence de la piézoélectricité dans les poudres consiste à déceler des résonances électromécaniques. Ainsi des microcristaux piézoélectriques placés entre deux plateaux conducteurs forment un condensateur dont la réponse en fréquence, au point de vue électrique, rappelle celle d'un circuit oscillant à résonances multiples (en fait les phénomènes sont plus complexes encore). Les méthodes classiques de recherche des résonances piézoélectriques sont au nombre de deux (41) :

- la méthode de Giebe et Scheibe (ou méthode des poudres)
- la méthode du pont de capacités.

Dans la méthode de Giebe et Scheibe, la poudre est placée entre les plateaux d'un condensateur inséré dans le circuit oscillant d'un oscillateur représenté sur la figure 36.

OSCILLATEUR DE GIEBE-SCHEIBE

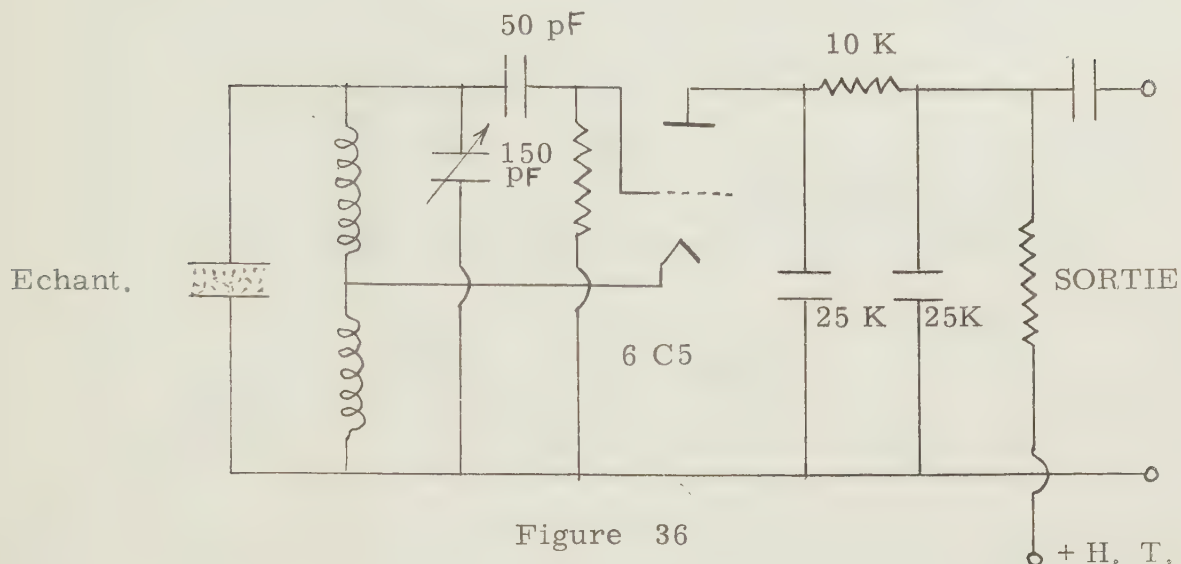


Figure 36

On change progressivement la fréquence de l'oscillateur à l'aide d'un condensateur variable. Au voisinage de la résonance d'un microcristal la fréquence de l'oscillateur est contrôlée pendant quelques instants par le grain envisagé. Ensuite il y a décrochage vers une autre valeur correspondant à un autre grain. Ainsi le courant HF de plaque subit une modulation que l'on analyse après détection et amplification basse-fréquence. Si l'on reçoit le signal dans un haut parleur, on entend des "clics" correspondant aux résonances des divers grains.

La deuxième méthode utilise le pont de capacité représenté sur la figure 37. La poudre est toujours entre les plateaux d'un condensateur. Le pont est équilibré pour une fréquence donnée, en dehors des zones éventuelles de résonances. En modifiant la fréquence, on observe un déséquilibre lorsqu'on traverse une résonance. On peut obtenir ainsi des résultats quantitatifs sur le comportement piézoélectrique (41).

Ces méthodes ne sont efficaces que lorsque le couplage électromécanique dans les cristaux est suffisamment fort. Pour les couplages très faibles nous avons construit un appareillage beaucoup plus sensible que nous allons décrire maintenant, et qui était nécessaire pour les corps étudiés.

METHODE DU PONT

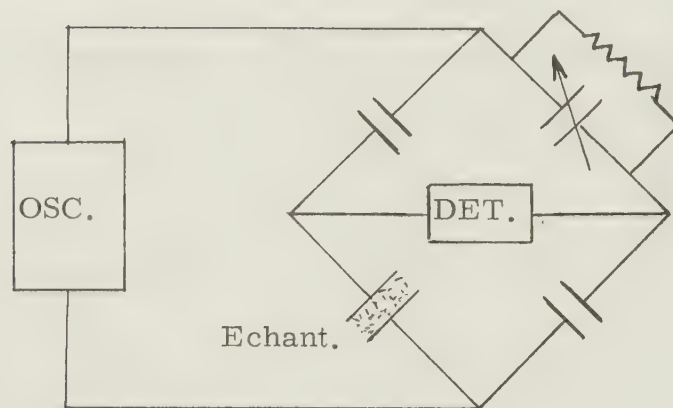


Figure 37

II. DESCRIPTION DU SPECTROGRAPHE REALISE (42)

1) Principe

La méthode de recherche des résonances piézoélectriques est calquée sur celle que l'on emploie en résonance nucléaire quadrupolaire pure. Des travaux de Duchesne et Monfils (43) et (44), et de Kojima et ses collaborateurs (45), (46), (47) ont déjà été entrepris de cette manière, pour des poudres microcristallines minérales et organiques.

On utilise un oscillateur HF et on place l'échantillon formant condensateur en parallèle sur le condensateur d'accord du circuit oscillant (fig. 38). On fait varier progressivement la fréquence fondamentale f_0 du circuit oscillant. Pour certaines fréquences l'échantillon absorbe de l'énergie électrique, provoquant une diminution du facteur de qualité Q du circuit oscillant. Le niveau de l'oscillation HF est modifié, et l'on détecte à l'aide d'un moyen approprié un pic. En résonance quadrupolaire pure on place l'échantillon dans la self du circuit oscillant, l'absorption d'énergie étant alors de nature magnétique.

C'est dans l'application de ce principe très simple que réside l'originalité de la méthode.

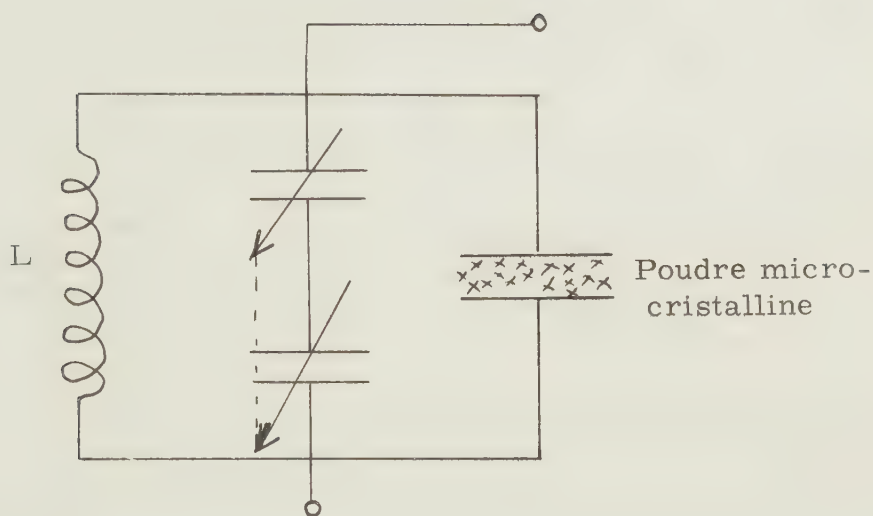


Figure 38

2) Choix de l'oscillateur. Oscillateur à superréaction

Lorsqu'on présume qu'une substance à l'état de poudre cristalline peut être piézoélectrique, le procédé de recherche du spectre de résonance doit répondre à trois impératifs dominants :

- Permettre l'exploration d'une bande de fréquence relativement étendue
- Etre suffisamment sensible pour déceler les résonances de faible intensité
- Posséder un rapport signal/bruit élevé.

Ces trois qualités se rencontrent dans l'oscillateur à superréaction, dont le fonctionnement a été décrit en détail par J. R. Whitehead (48).

Cet appareillage étant en outre analogue à ceux qui permettent d'étudier les résonances quadrupolaires, on a pu profiter de l'expérience acquise dans ce domaine par de nombreux chercheurs, notamment l'école de Dean.

Dans l'oscillateur à superréaction, on coupe périodiquement l'oscillation propre d'un oscillateur à tube. Cette coupure est obtenue en appliquant une tension périodique (pas forcément sinusoïdale) sur l'une des électrodes du tube oscillateur (en général la grille d'une triode ou d'une pentode).

D'une façon générale, on peut représenter schématiquement l'oscillateur par un circuit bouchon avec en parallèle une conductance G variable au cours du temps (fig. 39 - a). Cette conductance, introduite par le tube oscillateur et les circuits associés, peut se mettre sous la forme :

$$G = G_0 + G_r$$

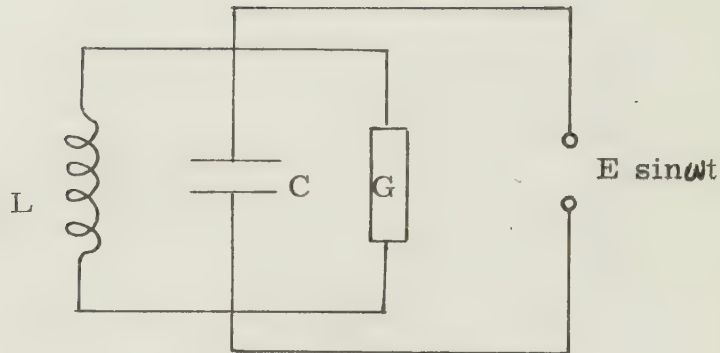


Figure 39 (a)

G_0 étant la conductance quand le tube est au cut-off et G_r la conductance due au tube oscillateur et liée au mode de couplage entre le circuit oscillant et la grille.

On peut supposer avec une bonne approximation que G_r est de la forme :

$$G_r = -K \cdot S$$

S étant la pente du tube et K une constante caractéristique du circuit employé.

Nous avons réalisé un couplage par condensateur suivant le schéma simplifié de la figure 39 -(b).

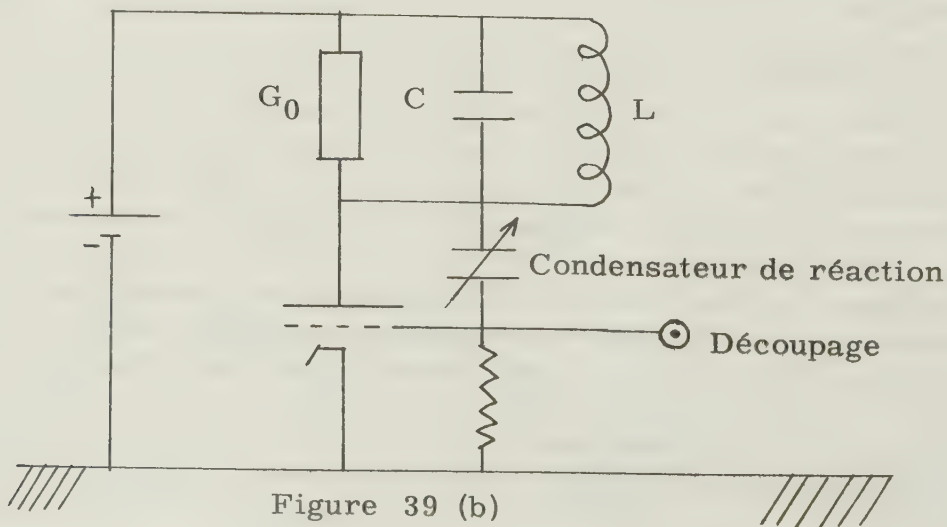


Figure 39 (b)

Si un signal de la forme $E \sin \omega t$ apparaît aux bornes du circuit représenté sur la figure 39 (a), la différence de potentiel $V(t)$ aux bornes du circuit oscillant est telle que

$$C \frac{dV}{dt} + GV + L^{-1} \int V dt = E \sin \omega t$$

soit

$$C \frac{d^2 V}{dt^2} + G \frac{dV}{dt} + V L^{-1} = E \omega \cos \omega t$$

Whitehead a montré que la solution de cette équation différentielle est :

$$V = A \exp \left(-\frac{G}{2C} + j\omega_D \right) t + B \exp \left(-\frac{G}{2C} - j\omega_D \right) t \frac{E \sin(\omega t + \varphi)}{\left[G^2 + (C\omega - 1/L\omega)^2 \right]^{1/2}}$$

où :

$$\omega_D = \left[\omega_0^2 - \left(\frac{G}{2C} \right)^2 \right]^{1/2}, \quad \omega_0 \text{ étant la pulsation propre du circuit oscillant :}$$

$$\omega_0 = (LC)^{-1/2}$$

A l'instant $t = 0$ on a $E \sin \omega t = 0$ et $V = 0$

$$\text{et on trouve que : } A = \frac{E \left[G\omega + (1/C\omega - L\omega) (-G/2C - j\omega_D) \right]}{2j\omega_D \left[G^2 + (1/C\omega - L\omega)^2 \right]}$$

$$B = \frac{-E \left[G\omega + (1/C\omega - L\omega) (-G/2C + j\omega_D) \right]}{2j\omega_D \left[G^2 + (1/C\omega - L\omega)^2 \right]}$$

Si le signal extérieur appliqué possède une pulsation égale à la pulsation propre ω_0 le circuit entre en résonance et l'on a :

$$A = \frac{E \omega_0}{2j\omega_D G} \quad \text{et} \quad B = -A$$

$$\text{d'où : } V(t) = \frac{E}{G} \left\{ \frac{\omega_0}{\omega_D} (\sin \omega_D t) \exp \left[(-G/2C) t \right] + \sin \omega_0 t \right\}$$

On voit apparaître ainsi :

- un terme dû au régime permanent : $V_P = \frac{E}{G} \sin \omega_0 t$

- un terme exprimant le régime transitoire : $V_T = \frac{E}{G} \frac{\omega_0}{\omega_D} (\sin \omega_D t) \exp \left(-\frac{G}{2C} t \right)$

La fonction $G(t)$ dépend de la forme du signal de découpage appliqué sur la grille du tube oscillateur. La figure 40 montre l'effet d'un découpage extérieur sinusoïdal. V_G représente la tension alternative appliquée à la grille du tube. G et V sont la conductance et la tension HF aux bornes du circuit oscillant. L'intervalle de temps durant lequel G passe de la valeur G_0 à la valeur 0 (portion de courbe P Q) est appelé période de régénération T_r .

Lorsque G est négative, le régime transitoire prend naissance et les oscillations croissent, atteignant leur amplitude maximale quand G s'annule de nouveau (point P) et redevient ensuite positif (période T_r).

On obtient ainsi, un train d'oscillations HF ; la forme de son enveloppe dépend de celle du signal de découpage. Sur la figure 40 on a représenté l'aspect correspondant au découpage sinusoïdal. Nous mentionnerons plus loin quelle est la figure d'oscillation que nous avons obtenue pour un découpage particulier.

Suivant les cas on emploie un générateur extérieur fournissant la tension de découpage ou bien on utilise un auto-découpage ("self-quenching"). La fréquence de découpage f_D doit être beaucoup plus faible que la fréquence propre $f_0 = \omega_0 / 2\pi$ de l'oscillateur.

D'une façon générale on peut assigner au rapport f_0 / f_D les limites suivantes :

$$100 < f_0 / f_D < 1000$$

Le découpage de l'oscillation HF donnant lieu à un gain exceptionnel lors de l'apparition d'un signal dans le circuit oscillant, on pourra amplifier celui-ci plusieurs millions de fois. La grande sensibilité de l'oscillateur tient à ce fait. Ce grand avantage de la superréaction, s'accompagne cependant de quelques défauts. Le découpage crée un certain nombre de pics supplémentaires qui ne sont que la multiplication d'un seul signal de résonance.

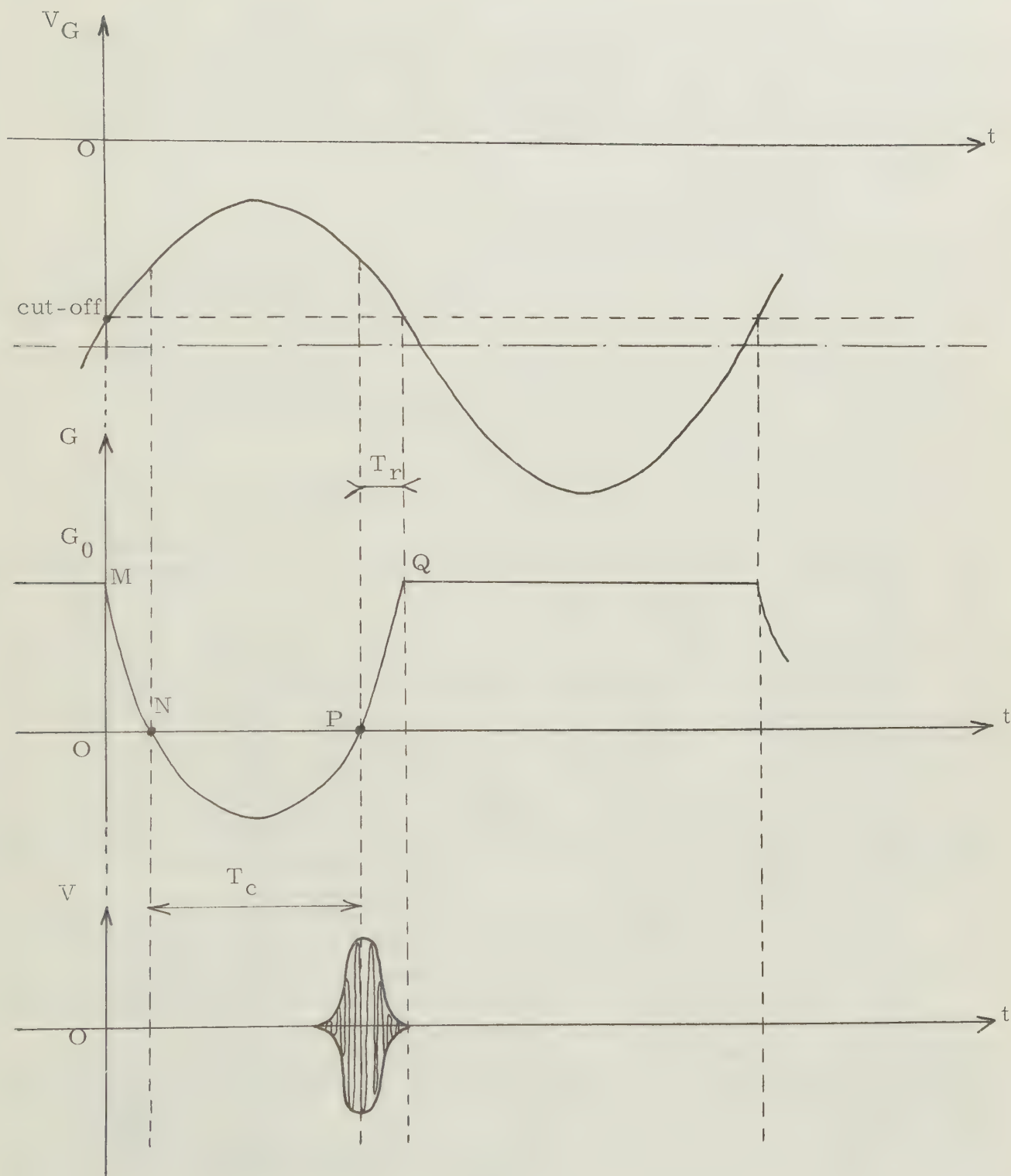


Figure 40

Signalons aussi que la fidélité de forme des spectres est assez difficile à obtenir sans précaution. Enfin, les divers réglages en vue d'un fonctionnement correct sont toujours très délicats, notamment : l'ajustage de la réaction entre le circuit oscillant et la grille du tube oscillateur, ainsi que celui de la fréquence et de la tension du signal de découpage.

3) Oscillateur : 5-50 MHz (figure 41)

Nous avons pris comme point de départ un oscillateur à superréaction dérivé de l'oscillateur de Dean (49). Le montage a été modifié par adjonction d'une détection séparée et emploi d'une modulation de fréquence par varicap. Le découpage extérieur est créé par un générateur BF, mais le signal n'est pas sinusoïdal à cause de la diode placée en série avec le générateur. La détection est assurée par une diode à pointe associée à un système R. C. possédant une constante de temps de 0,5 seconde.

La modulation en fréquence du signal H F est obtenue grâce à la variation de la capacité d'une varicap placée en parallèle sur le circuit oscillant. La fréquence de modulation est $f_m = 270 \text{ Hz}$. De nombreux auteurs (50) ont montré qu'une fréquence de modulation de cet ordre crée le minimum de bruit de fond si l'on emploie une pentode oscillatrice montée en triode telle que la 6 AK5. La tension continue appliquée sur la varicap est de l'ordre de 20 volts ; en faisant varier cette tension, on déplace légèrement la fréquence fondamentale f_0 , ce qui permet de l'ajuster aisément et de faire défiler les pics de résonances. La valeur de la tension efficace du signal de modulation BF définit par ailleurs la largeur de balayage d'un pic. La figure 42 nous montre la forme de l'enveloppe des oscillations HF. Cette photographie a été obtenue à la fréquence $f_0 = 30 \text{ MHz}$ avec une fréquence de découpage $f_D = 16,5 \text{ KHz}$ (sur tous nos oscillogrammes la largeur d'un carreau représente 20 microsecondes). Nous avons extrait le signal HF découpé de l'oscillateur, en couplant à la self du circuit oscillant une boucle placée à l'extrémité d'un câble coaxial relié à un oscilloscope HF.

La figure 42 c montre un découpage médiocre, tandis que la figure 42 a représente un découpage permettant d'obtenir la plus grande sensibilité. La figure 42 b correspond à l'amorçage du découpage (mode cohérent).

La réalisation pratique de cet oscillateur a demandé beaucoup de soins, et nous avons bénéficié des judicieux conseils que nous ont obligeamment prodigués le professeur Duchesne et ses collaborateurs.

L'ensemble du montage était câblé de manière serrée sur un bâti très rigide en plexiglass non blindé. (figure 43)

Nous avons évité les blindages, car les parois métalliques absorbent de l'énergie électromagnétique et contribuent à abaisser la valeur du facteur de qualité Q du circuit oscillant.

22K OA85

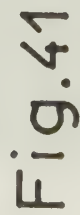


Fig. 41

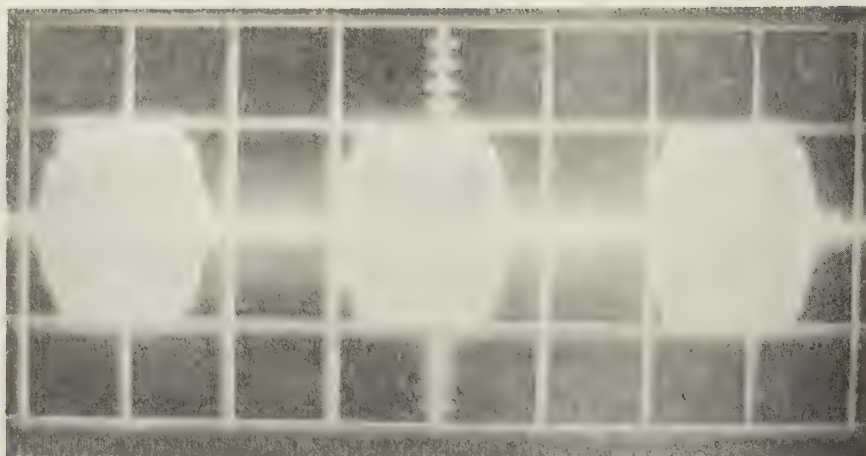


Fig.42a

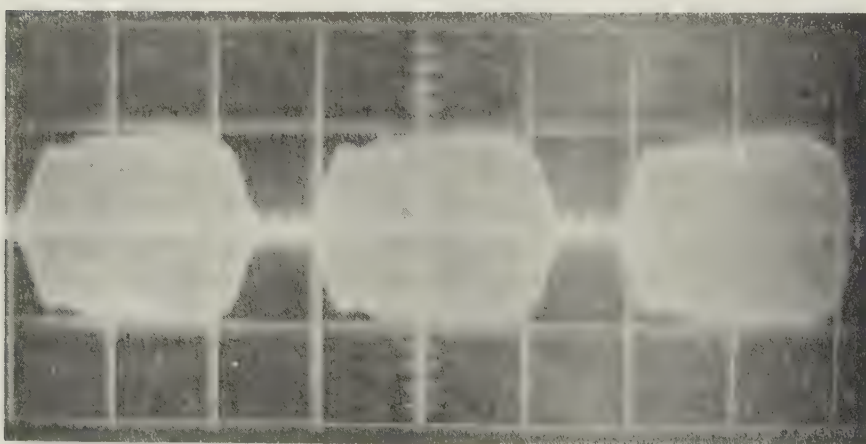


Fig.42b

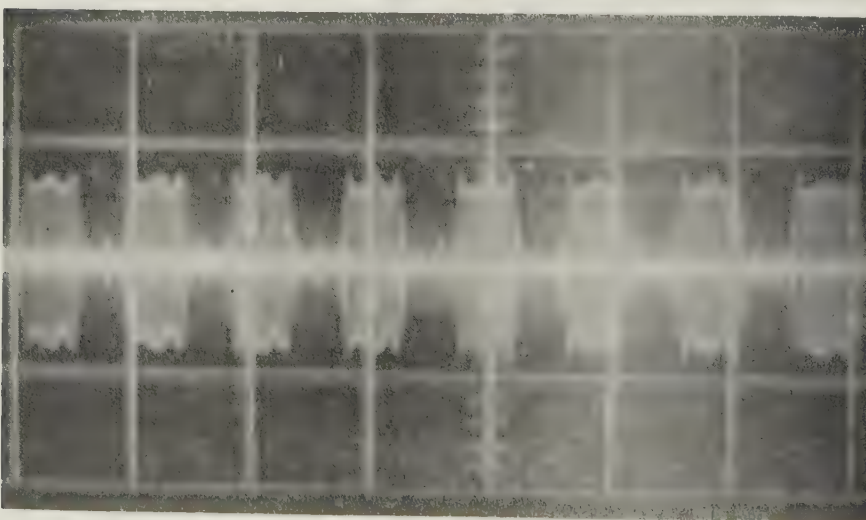
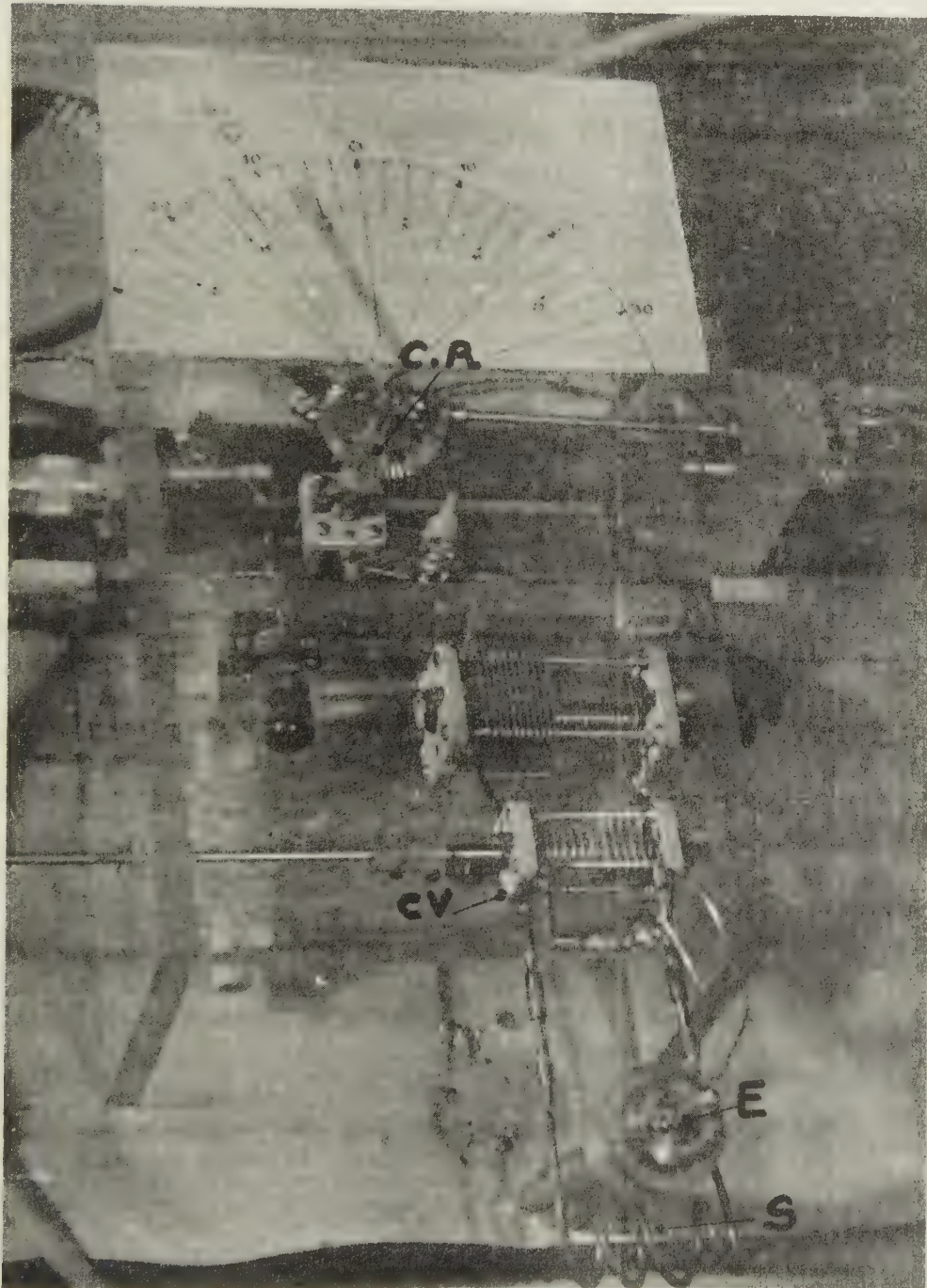


Fig.42c

Fig.43

DETAIL DE L'OSCILLATEUR



C.R. condensateur de
réaction

E échantillon

C.V condensateur vernier

S self

Pour obtenir une valeur élevée de Q les diverses selfs que nous avons employées ont été construites avec du cuivre pur. Le diamètre du fil était de l'ordre de 3 à 4 mm, et, suivant les fréquences désirées on a utilisé des solénoïdes de une à dix spires d'environ trente millimètres de diamètre. Ces selfs ont subi un polissage et des nettoyages fréquents au tétrachlorure de carbone avant emploi.

Les condensateurs variables du circuit oscillant (condensateur principal et condensateur vernier pour excursion fine de fréquence) ont été choisis dans la meilleure qualité professionnelle et sont formés de lames argentées ou dorées. Nous avons utilisé des condensateurs à double stator pour éviter les bruits de fond parasites qu'introduit la rotation du rotor d'un condensateur mono-stator (frottements métal-métal).

Ainsi un facteur de qualité élevé et, la grande sensibilité du montage à superréaction nous ont permis d'obtenir un oscillateur dans lequel le rapport signal/bruit est très bon. Le fait d'utiliser un seul tube contribue aussi à limiter le bruit de fond.

Notons par ailleurs que le bâti de l'oscillateur a été posé sur des plaques de mousse afin d'éviter toute vibration parasite. De plus, l'ensemble du spectrographe est placé dans une grande cage de Faraday isolant électrostatiquement et électromagnétiquement notre appareillage des champs électriques et des ondes existant dans le laboratoire.

4) Description du spectrographe

Sur la figure 44 on a représenté le bloc diagramme du spectrographe construit. L'oscillateur à superréaction est alimenté :

- d'une part, par diverses tensions continues obtenues à l'aide de batteries et de piles afin d'éviter toute ondulation parasite.
- d'autre part, à l'aide des générateurs basse fréquence délivrant les tensions de découpage et de modulation. Les deux générateurs BF ont été construits au laboratoire et comportent une régulation automatique d'amplitude par thermistance qui contribue à améliorer notablement le fonctionnement de l'oscillateur à superréaction.

Le signal HF modulé à la fréquence de 270 Hz est amplifié ensuite, sélectivement ou non suivant le mode d'observation employé.

L'amplificateur BF que nous avons utilisé est représenté sur la figure 45. Entre les points A et B on peut placer un filtre dont la bande passante est très étroite autour de 270 Hz.

Les générateurs de découpage et de modulation ainsi que l'amplificateur BF sont alimentés par trois hautes tensions stabilisées. De cette façon, après un chauffage des divers appareils durant une demi-journée, on obtient un fonctionnement très stable.

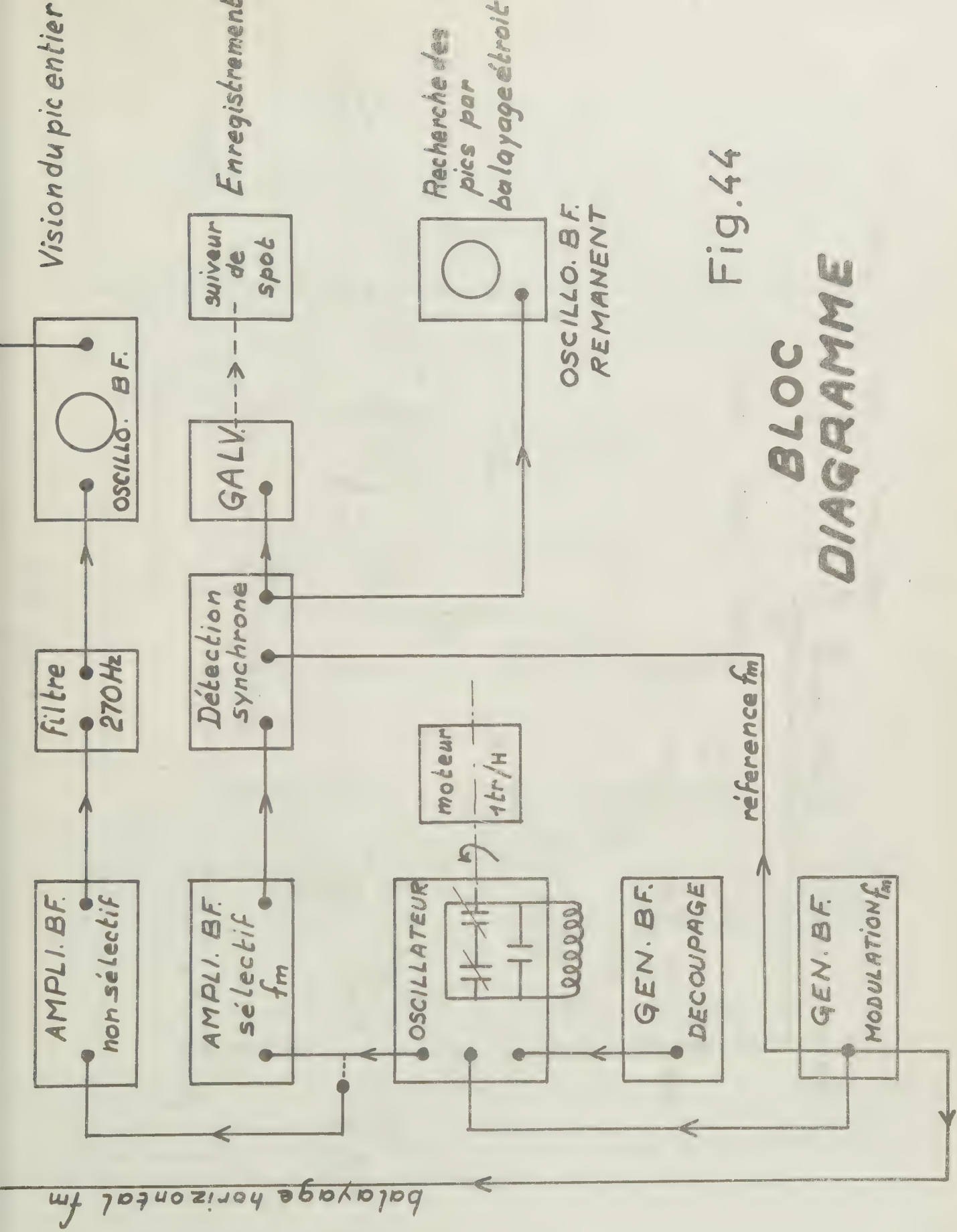


Fig. 44

BLOC DIAGRAMME

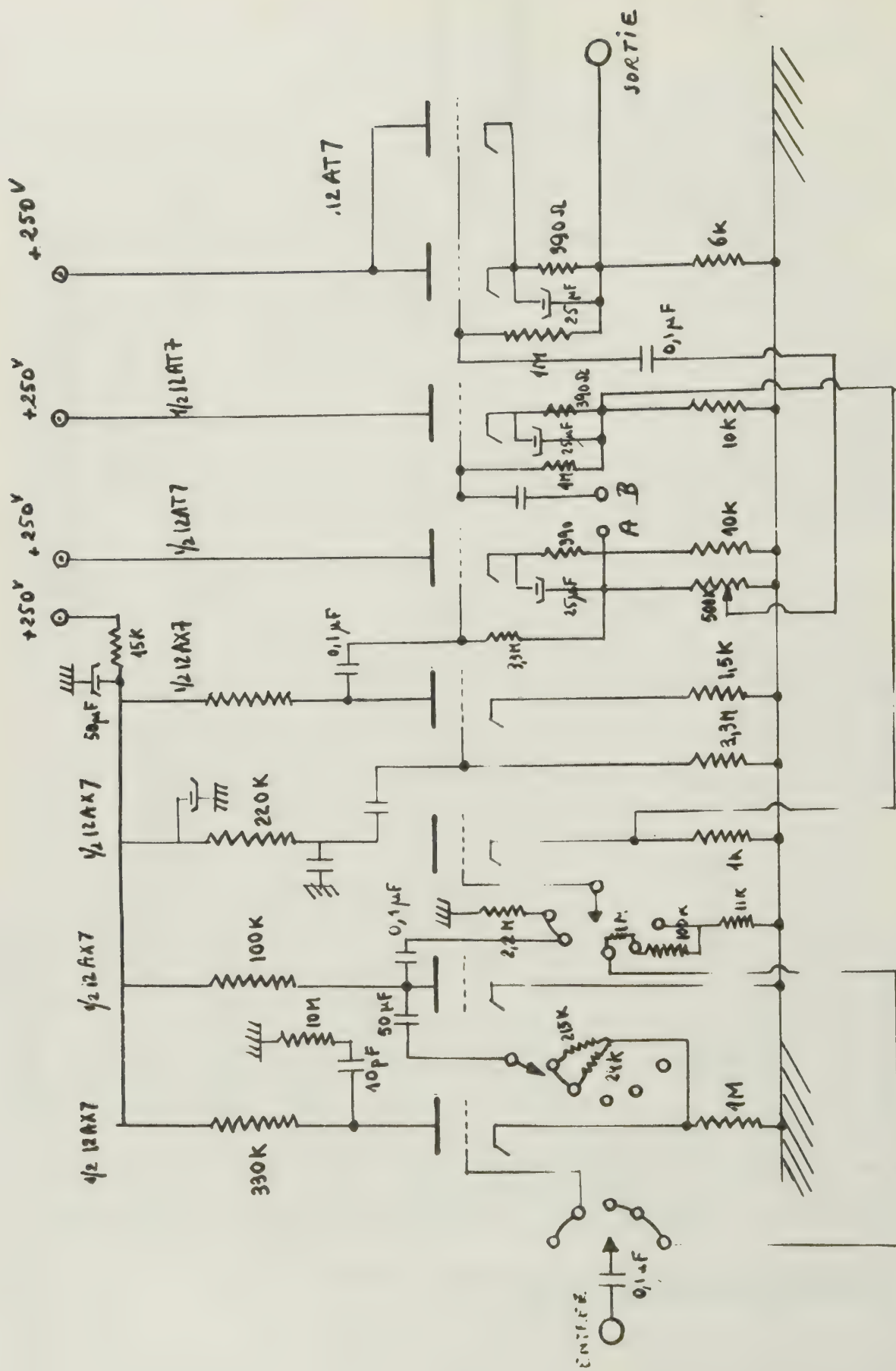


Fig. 45

5) Réception du signal

a) Observation visuelle :

Lorsque les pics de résonance ont une grande intensité, on peut observer le signal sur l'écran d'un oscilloscope. Le signal HF modulé est alors amplifié de façon non sélective. L'observation des harmoniques supérieurs est améliorée en introduisant un filtre rejetant la fréquence de 270 Hz dont la construction doit être très soignée (figure 46).

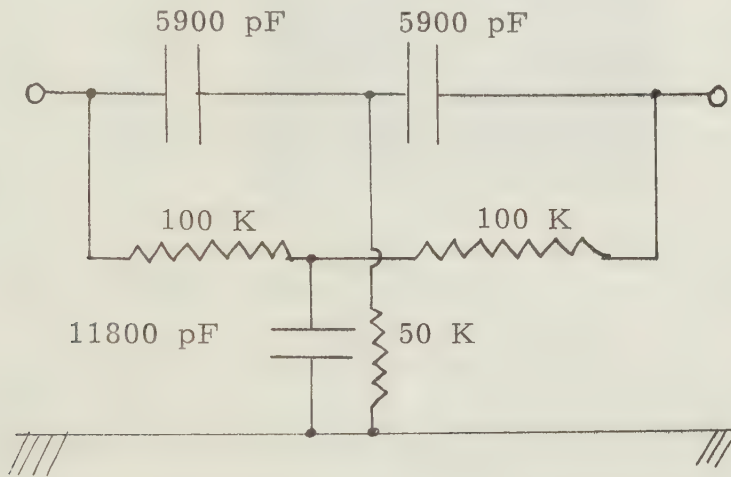


Figure 46

La recherche des pics s'effectue en tournant lentement à la main le condensateur vernier du circuit oscillant. La rotation de celui-ci est démultipliée par un train d'engrenages. On peut aussi comme nous l'avons dit plus haut faire varier lentement la tension continue appliquée aux bornes de la varicap. La figure 47 montre l'un des pics obtenus avec l'urée autour de 30 MHz. La piézoélectricité de l'urée était déjà connue mais le couplage électromécanique est faible. Ce corps (provenance Carlo Erba, Milano) nous a servi pour le contrôle de l'appareillage.

b) Enregistrement après détection synchrone :

Le signal est amplifié sélectivement à la fréquence de modulation BF (270 Hz) puis détecté de façon synchrone. Nous avons construit l'amplificateur sélectif spécialement en fonction de cette utilisation (figure 45): En effet, on sait que les performances d'un amplificateur sélectif fonctionnant à fréquence fixe sont meilleures que celles d'un amplificateur sélectif à fréquence variable.

Les hautes tensions que nous avons utilisées sont stabilisées et séparées pour chaque appareil. La bande passante à 270 Hz est de l'ordre de 35 décibels par octave. Cet excellent résultat est obtenu grâce à un filtre double T, dont les valeurs des composants ont été soigneusement ajustées, placé entre A et B en contre-réaction.

Le détecteur synchrone représenté sur la figure 48 est du type le plus simple.

DETECTEUR SYNCHRONE

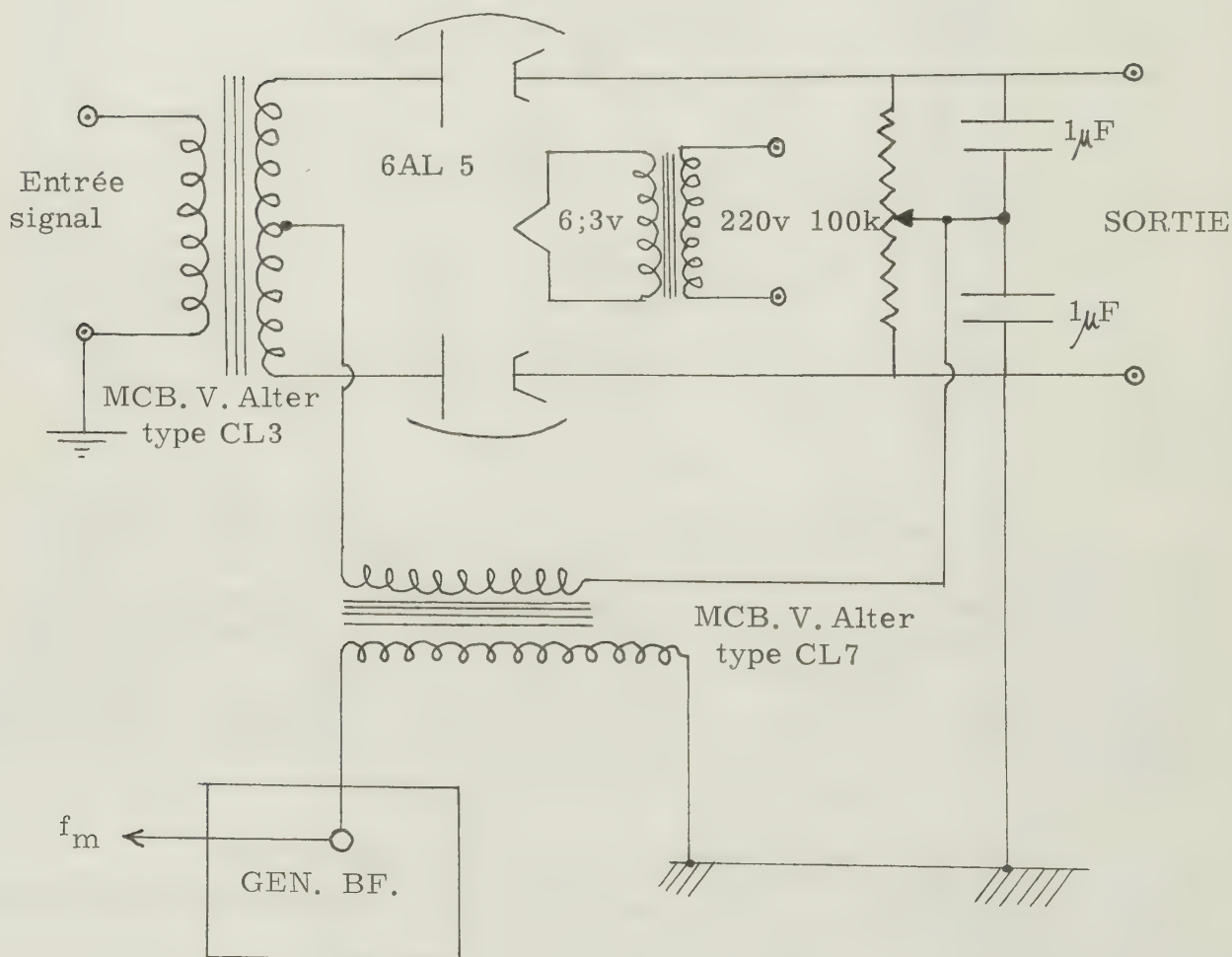


Figure 48

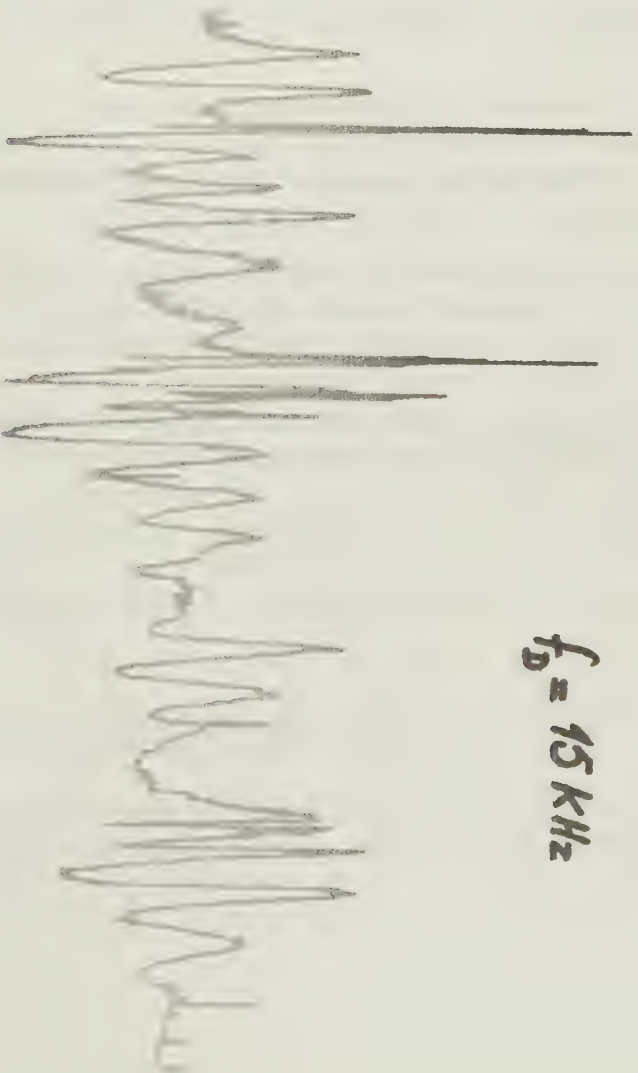
Comme pour l'oscillateur à superréaction, nous avons utilisé un seul tube afin de réduire le bruit de fond.

URÉE

Fig.47

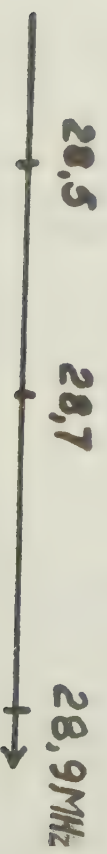


Pic de l'urée
observation visuelle



$f_0 = 15 \text{ kHz}$

Fig.49



La détection synchrone s'effectue à l'aide d'un balayage en fréquence de faible amplitude (avec la varicap employée, la tension alternative de modulation de fréquence est de l'ordre de 0,8 V_{eff}).

La tension de sortie du détecteur synchrone est ensuite reçue sur un galvanomètre de sensibilité $0,2 \cdot 10^{-9}$ A/mm, à travers une résistance variable entre 1 et 100 M Ω .

L'enregistrement est effectué avec un suiveur de spot SEFRAM Photodyne PHD8. On obtient ainsi un spectre complet dans la gamme de fréquence correspondant à une rotation de un quart de tour du condensateur vernier de recherche.

Le rotor de ce condensateur est entraîné par un moteur dont la vitesse de rotation est de un tour/heure, couplé si nécessaire à des multiplications ou des démultiplications adéquates.

Un spectre de contrôle obtenu avec l'urée est représenté sur la figure 49.

c) Recherche visuelle des pics à l'aide d'un balayage étroit :

Ce procédé, peu décrit, réunit les avantages des deux modes d'observation précédents :

- Commodité de recherche des pics inconnus, par vision immédiate sur l'écran d'un oscilloscope.

- Observation possible des pics de faible intensité, la détection synchrone extrayant ceux-ci du bruit de fond.

Pour effectuer ce genre d'observation, on branche la sortie de la détection synchrone sur l'amplificateur vertical d'un oscilloscope BF à écran de grande résonance (nous avons utilisé le CRC type DC 422C).

La tension alternative appliquée sur la varicap est la même que celle du b) (balayage étroit). Le balayage horizontal de l'écran de l'oscilloscope est très lent (à l'aide de la base de temps spéciale de cet appareil, nous avons employé, par exemple, des vitesses de 5 cm/seconde).

Pour chercher les pics de résonance on tourne lentement à la main le rotor du condensateur vernier. On procède ainsi à un véritable enregistrement visuel grâce à la rémanence et à la faible vitesse du balayage horizontal.

III. RESULTATS (51)

L'appareillage a été contrôlé avec diverses substances dont la piézo-électricité était déjà connue ; nous avons déjà mentionné le spectre de l'urée (figure 49).

Ensuite nous avons cherché à obtenir des spectres avec les divers dérivés des Acides Nucléiques que nous possédions. (+)

Parmi les bases de l'ADN ou de l'ARN, seule la Cytosine, nous a donné un spectre (figure 50). Ce résultat avait été déjà annoncé par Read et Duchesne (52) qui ont opéré dans une autre gamme de fréquence et avec une fréquence de découpage plus élevée.

Dans la gamme 10-40 MHz, la Thymine, la Guanine et l'Adénine ne résonnent pas. Cependant la Purine est piézoélectrique comme le montre le spectre de la figure 51.

Parmi les Nucléosides du 2-D-Désoxyribose nous avons enregistré les spectres de la Désoxyadénosine $[9-\beta - D - (2' \text{ désoxy}) \text{ ribofuranosido Adénine}]$, de la Thymidine $[3-\beta - D - (2' \text{ désoxy}) \text{ ribofuranosido Thymine}]$, et de la Désoxyuridine $[3-\beta - D - (2' \text{ désoxy}) \text{ ribofuranosido Uracile}]$. (figures 52, 56 et 57)

Nous avons décelé des résonances piézoélectriques sur les nucléosides du Ribose suivants :

L'Adénosine $(9-\beta - D - \text{ribofuranosido Adénine})$, la Cytidine $(3-\beta - D - \text{ribofuranosido Cytosine})$, et l'Uridine $(3-\beta - D - \text{ribofuranosido Uracile})$ (figures 53, 54 et 55).

Dans la gamme de fréquence étudiée nous avons obtenu des résultats négatifs avec la Désoxyguanosine, la Désoxycytidine et le 2 - D - Désoxyribose.

Tous les spectres que nous avons obtenus, sont reproductibles, à une température donnée et pour une même fréquence de découpage. Les pics figurant sur un spectre expriment la réponse électromécanique des divers grains, mais seuls certains sont des pics de résonances ; les autres sont inhérents au découpage.

La largeur moyenne des pics à mi-hauteur varie d'une substance à l'autre. A la température $T = 295^\circ \text{ K}$ les valeurs suivantes ont été obtenues :

Cytosine	: 20 KHz
Purine	: 26 à 33 KHz
Uridine	: 25 KHz
Thymidine	: 20 KHz
Désoxyadénosine	: 25 à 30 KHz

Lorsque T varie, il se produit un déplacement Δf de la fréquence f_T de chaque pic. On peut traduire cette variation par le coefficient Λ

$$\Lambda = \frac{1}{f_T} \cdot \frac{\Delta f}{\Delta T}$$

(+) Produits fournis par le Centre de Recherches sur les Macromolécules de Strasbourg.

Ainsi avec la Cytosine à 31 MHz en faisant varier la température T autour de 295° K on a une valeur de Δ de l'ordre de $2 \text{ à } 3 \cdot 10^{-4}$ par degré.

Le pouvoir rotatoire étant lié comme la piézoélectricité à la dissymétrie cristalline, il paraît intéressant de faire un rapprochement entre les deux phénomènes. Nous avons classé dans le tableau ci-dessous le pouvoir rotatoire des Nucléosides et noté ceux pour lesquels la piézoélectricité a été décelée. (Signe +)

RIBONUCLEOSIDES

Substance	Concentration	$[\alpha]_D$	Solvant	Température	Piézo- électricité
Adénosine	0,7	- 61,7	eau	11°C	+
Cytidine	2,0	+ 34,2	eau	11°C	+
Guanosine	1,4	- 72	0,1N NaOH	26°C	
Uridine	2	+ 9,6	eau	16°C	+

DESOXYRIBONUCLEOSIDES

Désoxyadénosine	1	- 26	eau	21°C	+
Désoxycytidine	1,31	+ 82,4	N NaOH	19°C	
Désoxyguanosine	0,86	- 47,7	N NaOH	19°C	
Thymidine	1,04	+ 32,8	N NaOH	16°C	+
Désoxyuridine	1,1	+ 50	N NaOH	22°C	+

En ce qui concerne les Acides Désoxyribonucléiques, nous n'avons décelé aucune résonance dans la gamme 15-50 MHz sur des ADN de Thymus de veau et d'érythrocyte de poulet hautement polymérisés [$\xi(P) < 7000$]. On peut donc penser que les résonances annoncées sur des ADN de fort $\xi(P)$ seraient dûes aux nucléotides libres et non à la structure de Watson et Crick. On ne peut en effet admettre l'existence d'une forme hélicoïdale que pour des échantillons d'ADN dont l'état de polymérisation est suffisamment élevé.

Un ADN avec un $\epsilon(P) > 8000$ ne peut être considéré que, comme un ensemble de nucléotides.

Il est d'ailleurs peu vraisemblable que des résonances piézoélectriques des fibres d'ADN soient observables vers 30 MHz.

IV. ORIGINE DES RESONANCES

Nous avons considéré que nos spectres étaient dûs à la superposition de phénomènes liés aux divers grains. Ces expériences complémentaires ont permis de vérifier cette hypothèse. En outre, si les résonances que nous avons obtenues sont dûes à des grains cristallins leur taille influence la fréquence de résonance, ce qui a été vérifié.

Ainsi, nous avons pilé dans un mortier la Cytosine et le spectre obtenu vers 31 MHz a disparu. Les figures 58 et 59 montrent l'aspect des grains avant et après pilage.

Cependant l'étendue du spectre en fréquence pour chaque substance est grande. Ceci est dû non seulement à la grande variété des dimensions des grains mais aussi au fait que chaque grain peut conduire à un certain nombre de fréquences de résonances, soit qu'il s'agisse d'un fondamental et d'harmoniques pour un mode donné.

Ainsi les nucléosides résonnaient dans la même gamme de fréquence que la cytosine bien que la taille moyenne des grains soit nettement plus faible. En outre, l'étendue de la zone où l'on observe les pics, dépend de l'importance du couplage électromécanique et de la sensibilité du montage. Notre montage était particulièrement sensible autour de 30 MHz. Nos meilleurs spectres ont été obtenus dans cette région et c'est pourquoi les diagrammes précédents s'y situaient tous.

Pour vérifier que les spectres comprennent les contributions des divers grains, nous avons étudié le comportement d'un grain unique. Nous avons opéré avec un grain de cytosine dont les dimensions étaient relativement grandes, ce qui permettait de le manipuler. Il avait la forme d'un parallépipède rectangle et ses dimensions étaient les suivantes : longueur 2 mm, largeur 0,4 mm, épaisseur 0,18 mm. Il a été placé à plat entre les plateaux d'un condensateur plan introduit dans le circuit oscillant de l'oscillateur à superréaction.

Un spectre est obtenu, mais il ne s'agit plus d'un spectre s'étendant de façon pratiquement continue dans un large domaine de fréquence, une résonance se caractérise par une série de pics très voisins couvrant une bande étroite de fréquence. On a obtenu la structure remarquable représentée par la figure 60. La multiplicité des pics est due au découpage.

Il s'agit d'ailleurs d'une résonance très simple et le champ électrique était dirigé perpendiculairement à une face du cristal. En outre il s'agissait d'un monocristal de sorte que l'on obtient une résonance pure, les phénomènes étant plus complexes dans un grain qui n'est pas un cristal unique. La figure 61 montre le diagramme obtenu aux rayons X (diagramme de Laue) ; le cristal est monoclinique, l'axe b était dans le plan des plus grandes faces du cristal et perpendiculaire au faisceau de rayons X. (+)

Avec les monocristaux on peut effectuer une étude quantitative de la piézoélectricité et déterminer les constantes élastiques et piézoélectriques. Cette étude n'a pas été faite. Le travail cité ci-dessus pour un monocristal en était une amorce. Mais il faudrait des cristaux beaucoup plus gros pour pouvoir déceler toutes les résonances possibles des cristaux en vue de cette étude quantitative.

(*) Ce diagramme a été obtenu par Mme Castet et M. Maillet, que nous tenons à remercier ici.

CYTOSINE

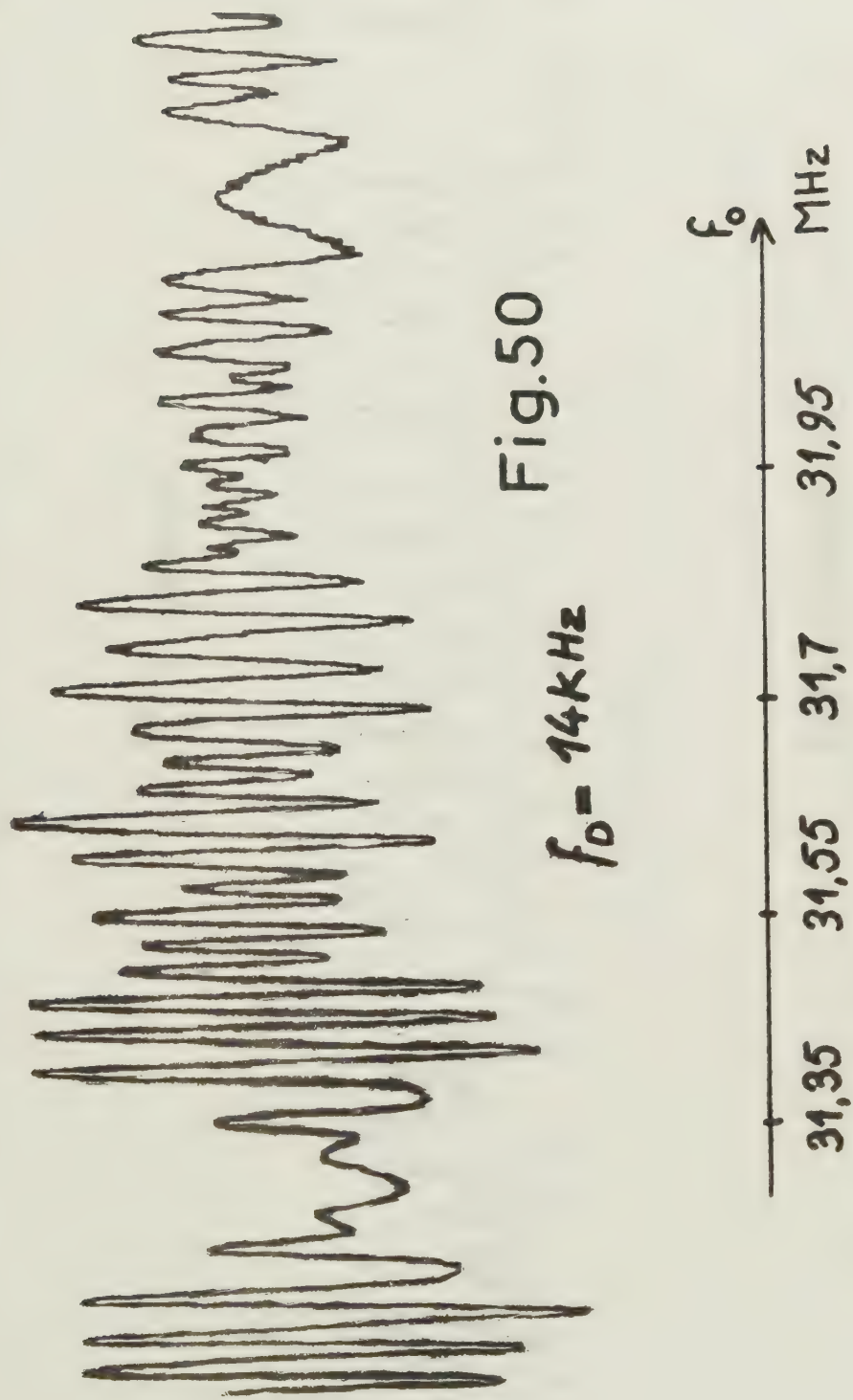
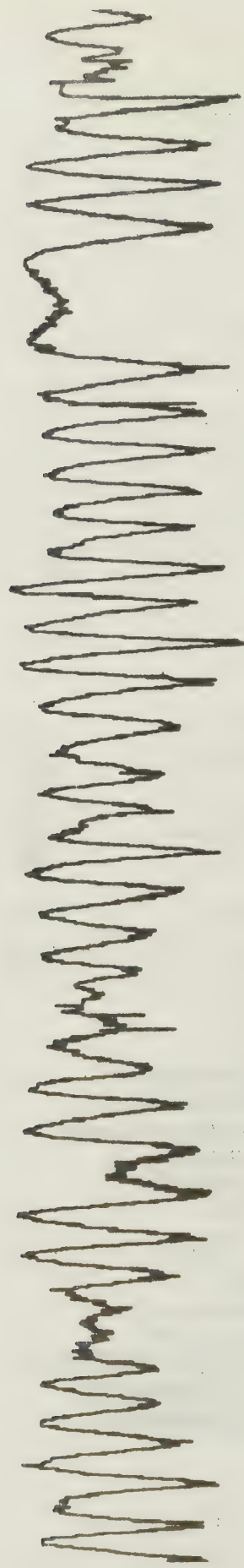


Fig.51

PURINE



$$f_D = 18 \text{ KHz}$$

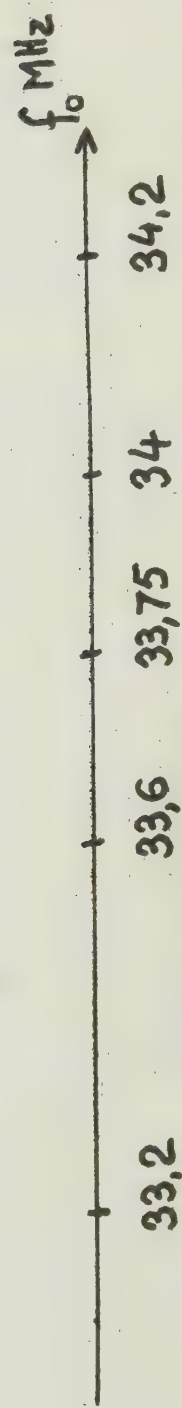
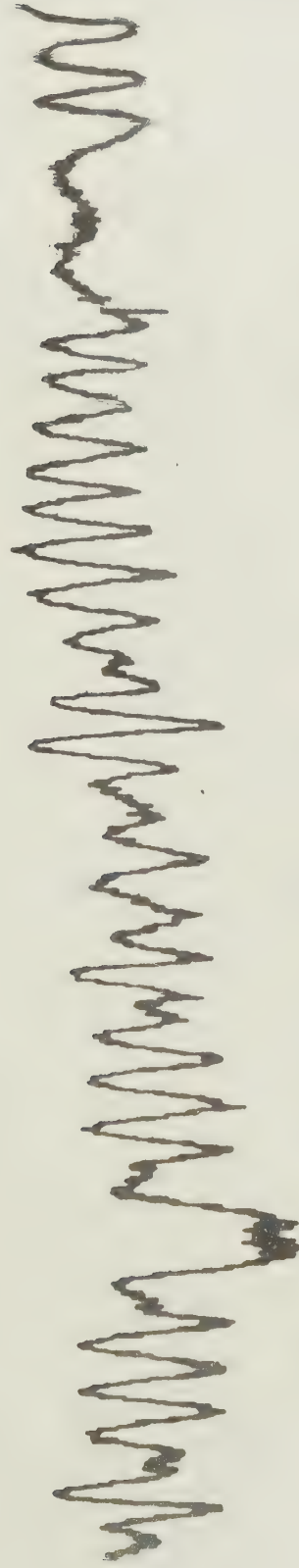


Fig.52

DESOXYADENOSINE



$f_D = 19 \text{ KHz}$

$f_0 \text{ MHz}$

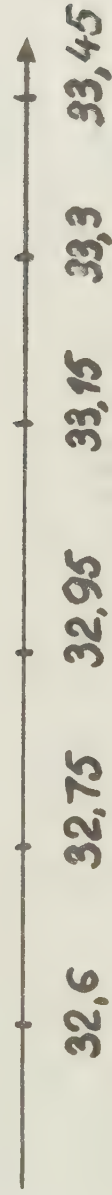
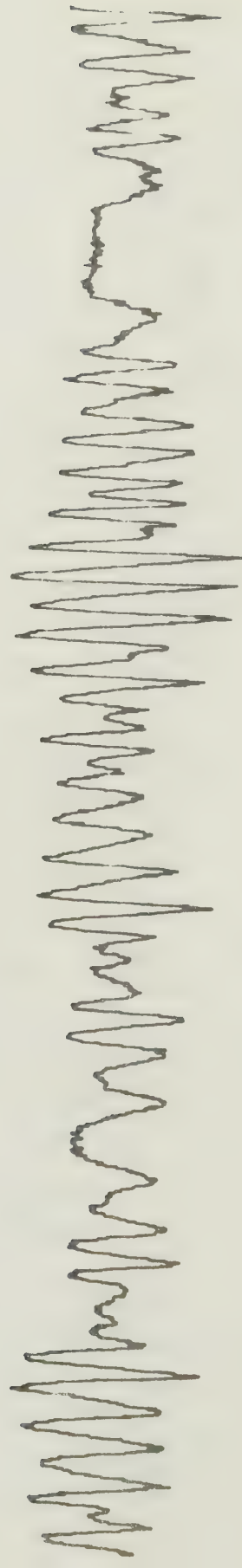


Fig. 53

ADENOSINE



$$f_D = 17 \text{ KHz}$$

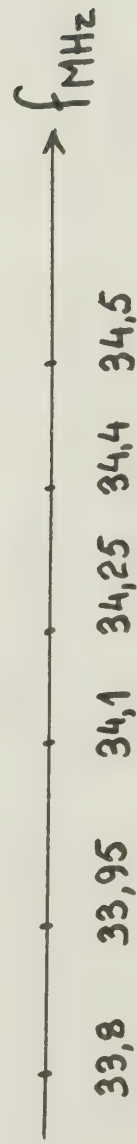
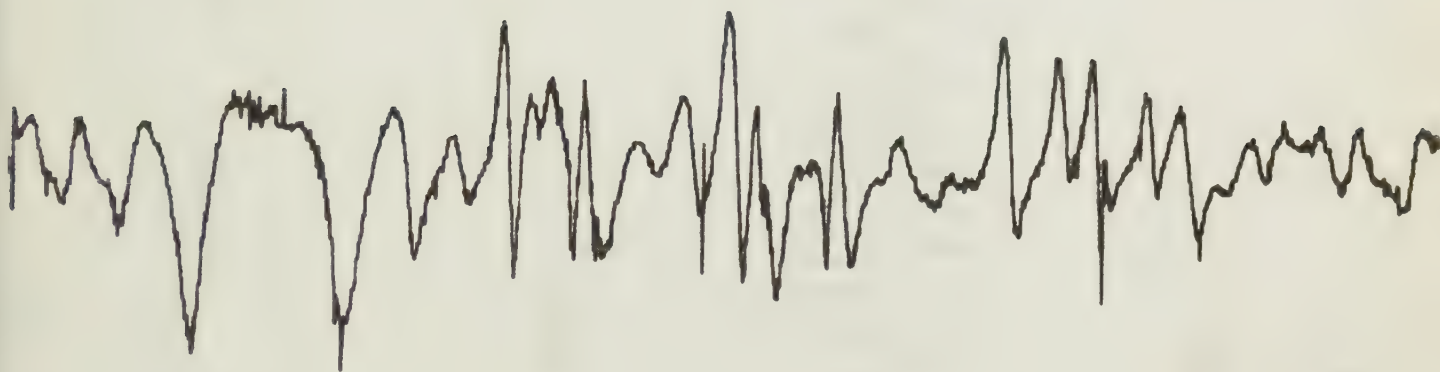


Fig.54

CYTIDINE

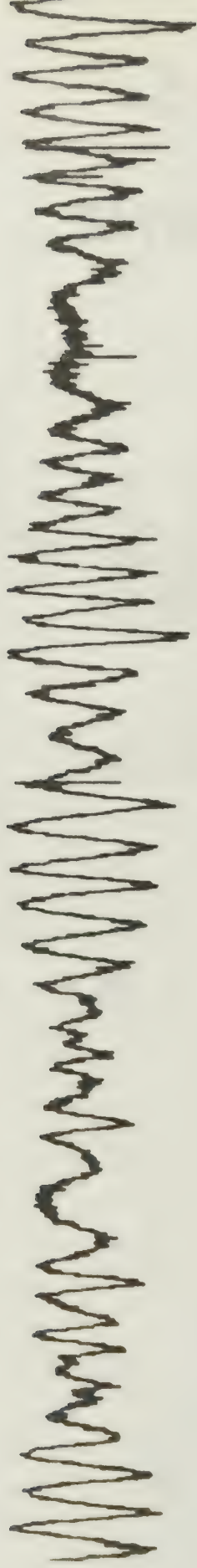


$$f_D = 15 \text{ kHz}$$



Fig.55

URIDINE



$$f_D = 18,5 \text{ KHz}$$

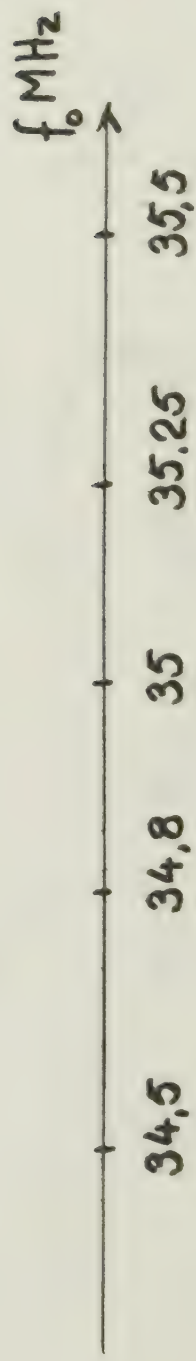


Fig. 56

THYMIDINE

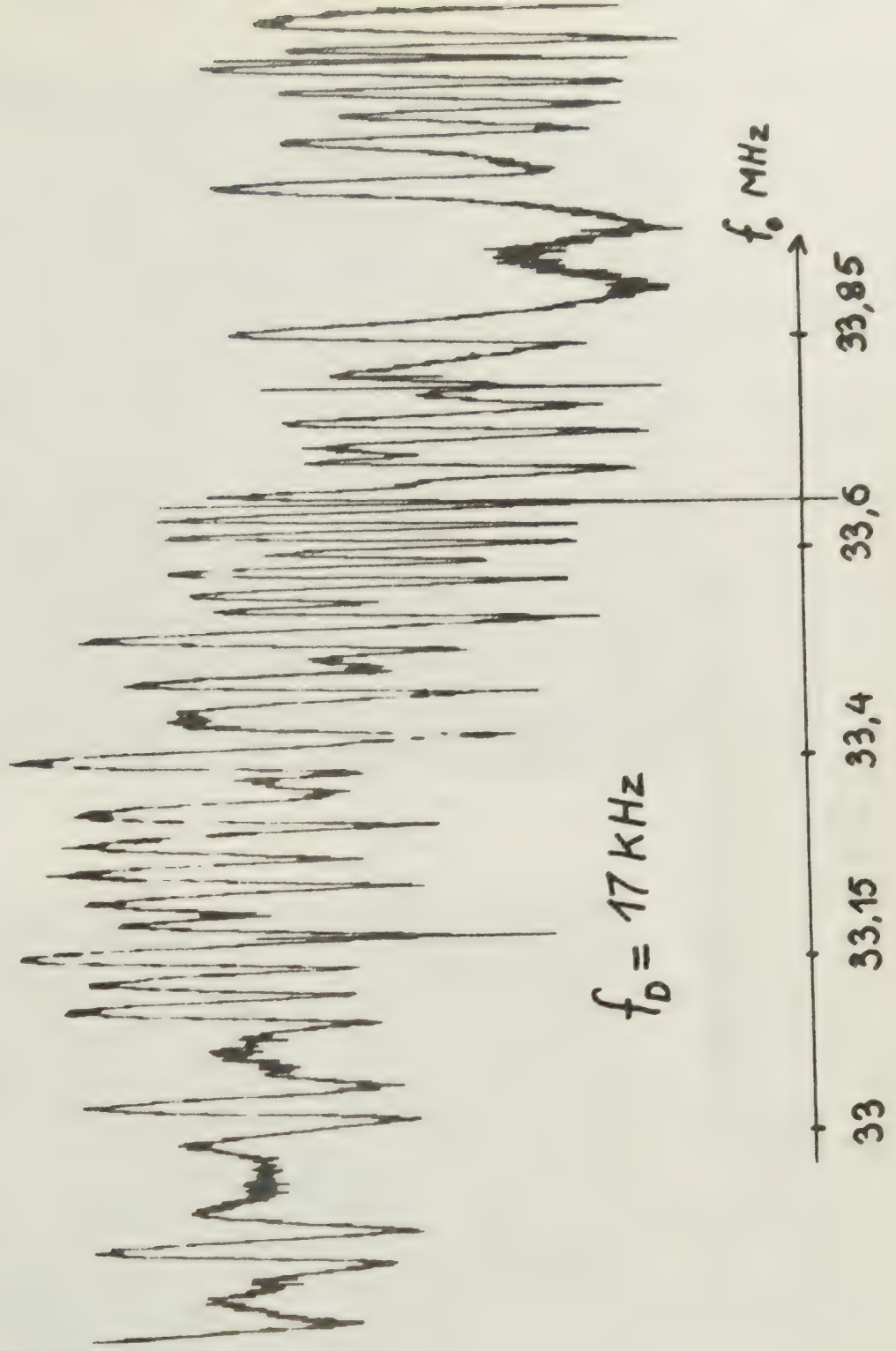
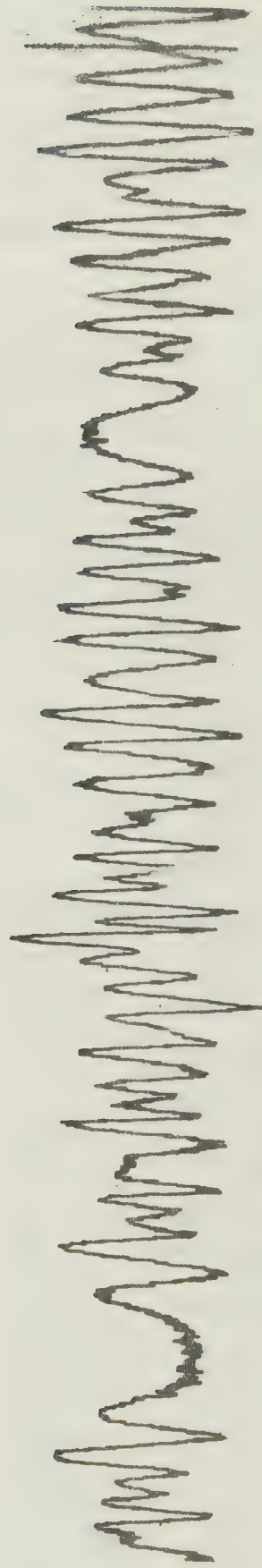


Fig.57

DESOXYURIDINE



$$f_D = 17,5 \text{ KHz}$$

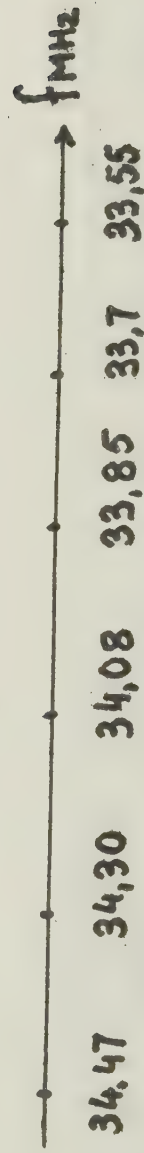




Fig.58

CYTOSINE

avant pilage

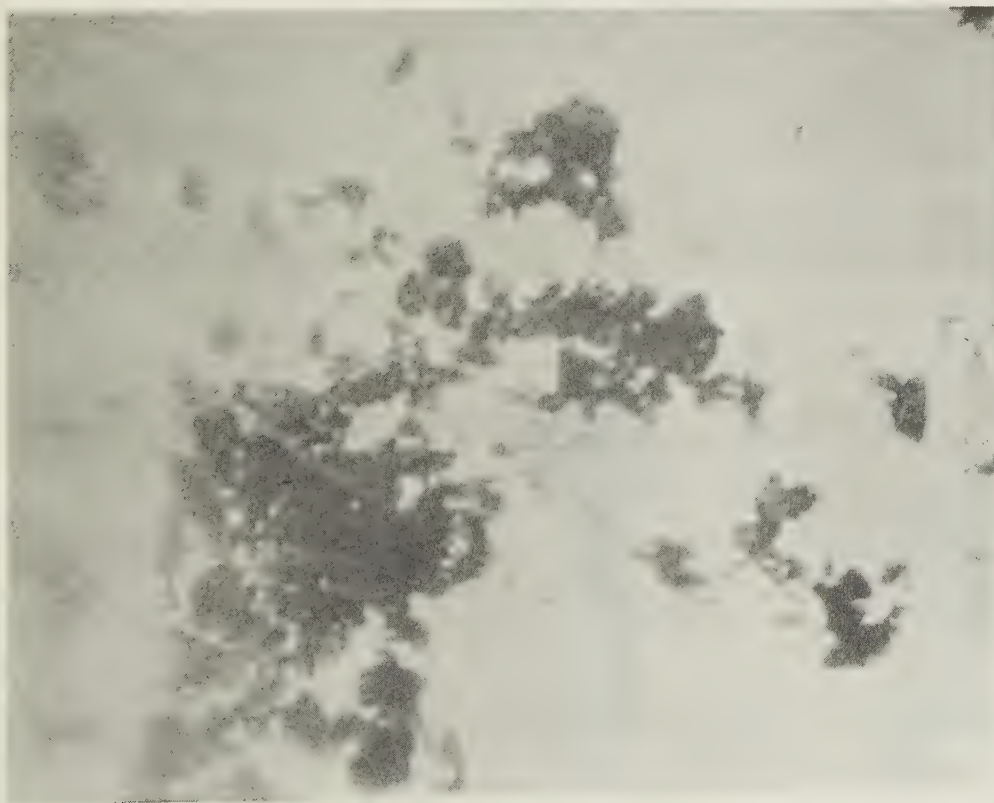


Fig.59

CYTOSINE

après pilage

Fig.60

CYTOSINE
monocrystal

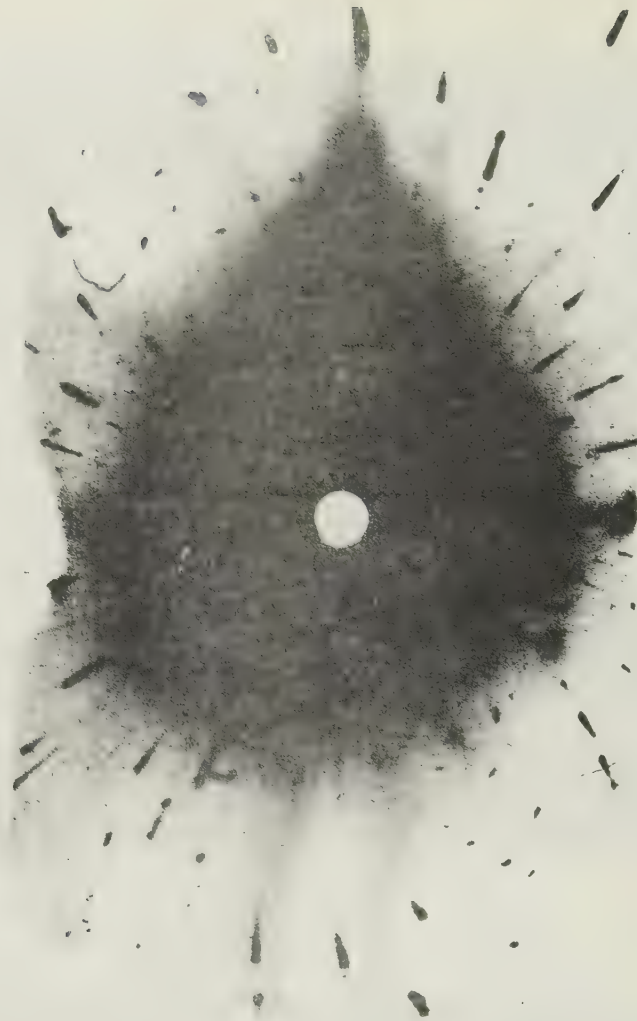
$f_D = 17 \text{ kHz}$



28,75 28,25 MHz

CYTOSINE monocrystal

axe | b



axe | b

Fig.61

TROISIEME PARTIE

ETUDES DIELECTRIQUES

A. ETUDE DES SOLUTIONS D'ADN

=====

I. PROBLEMES POSES. INFLUENCE DES IONS

--

1) Généralités

Nous nous sommes proposé d'apporter une contribution aux propriétés diélectriques des acides désoxyribonucléiques, en complétant et en précisant les travaux antérieurs.

Des études diélectriques sur des ADN dialysés en solution dans l'eau ont été entreprises par JERRARD et SIMMONS (53), JUNGNER et coll. (54) et I. JUNGNER(55). Dans cet état, l'étude présente moins d'intérêt pour le biophysicien car la structure secondaire est abimée et nous sommes loin de la macromolécule hautement polymérisée. Aussi l'expérimentation biophysique des ADN doit porter sur des fibres non dénaturées (état solide cristalloïde) ou sur des solutions salines. On doit contrôler l'état du produit en mesurant son $\mathcal{E}(P)$ (dosage du phosphore) et en traçant la courbe d'absorption ultra - violette comme nous l'avons signalé dans notre introduction.

D'autre part, l'acide désoxyribonucléique est soluble dans les solvants organiques comme la formamide ou le diméthylsulfoxyde, mais avec une certaine dénaturation. Une étude dans ces solvants est également intéressante.

Les fibres d'ADN contiennent un pourcentage d'eau pouvant atteindre 30%. A partir de cet ADN natif (non dénaturé) , des études systématiques des divers facteurs intervenant dans la dénaturation par la mise en solution ont été entreprises par divers auteurs et notamment R. THOMAS. Cet auteur signale le rôle prépondérant joué par la concentration saline des solutions aqueuses d'ADN. L'ADN dialysé dissous dans l'eau bi-distillée ou déionisée est dénaturé à la température ambiante. Par contre les solutions salines ($ClNa$) sont stables et d'autant plus que la concentration de sel est élevée. La limite de concentration saline au-dessous de laquelle il y a dénaturation à température ambiante est sensiblement 10^{-3} M. $NaCl$.

II. DISPOSITIF D'ETUDE

1) Mesure des impédances

Au cours de cette étude, nous nous sommes servi du pont d'impédances General Radio, type 916 AL. Celui-ci permet la mesure d'impédances capacitives ou selfiques à des fréquences comprises entre 50 KHz et 5 MHz. On introduit entre les bornes du pont l'impédance complexe inconnue

$$Z_x = R_x + j X_x$$

En fait il faut tenir compte de la capacité par rapport à la masse et de la self L du câble reliant l'inconnue à la borne chaude du pont (figure 63).

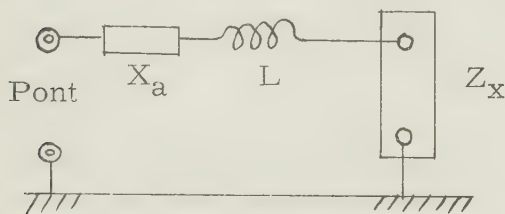


Figure 63

Ce câble est fourni avec le pont et sa capacitance X_a à toute fréquence, ainsi que sa self L sont connues.

Compte tenu de ces corrections, on a, en appelant R et X la résistance et la réactance mesurées au pont :

$$R_x \approx R (1 + 2 X / X_a)$$

$$X_x \approx X + \frac{X^2 - R^2}{X_a} - L \omega$$

On en déduit la tangente de l'angle de pertes : $\text{tg } \delta = R_x / X_x$

et la capacité parallèle: $C_p = \left[(\omega X) (1 + \text{tg}^2 \delta) \right]^{-1}$

Nous avons pu effectuer des mesures précises avec une grande sensibilité grâce à un montage soigné des masses et des câbles coaxiaux. Le pont est alimenté par un générateur HF Métrix 931, le signal de déséquilibre est reçu sur un récepteur hétérodyne AME type 5100, qui l'amplifie sélectivement puis on sort sur un oscilloscope qui permet de régler visuellement l'équilibre du pont.

2) Cellules à liquides

Nous avons employé deux cellules de mesure très différentes afin de pouvoir éliminer si nécessaire les effets d'électrodes. Sur la figure 64 on a représenté la cellule à liquide Férisol type C S. 501. La solution est introduite entre une cuve cylindrique et un piston cylindrique coaxial. Les capacités parasites dues aux effets des bords sont éliminées grâce à un évidement formant anneau de garde. La deuxième cellule que nous ^{avons} construite est basée sur le même principe, mais elle est de dimensions plus réduites. Le cylindre femelle formant cuve est emboîté sur un raccord coudé de câble coaxial du type Péréna. Le cylindre mâle est ajusté sur la prise centrale du raccord (figure 65). Le volume de solution utile n'est que de 4cm^3 , alors qu'avec la cellule Férisol il faut environ 20cm^3 .

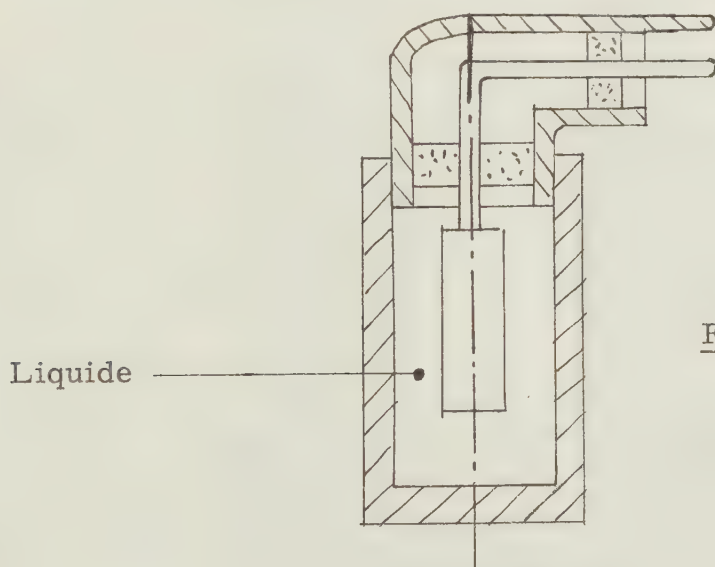
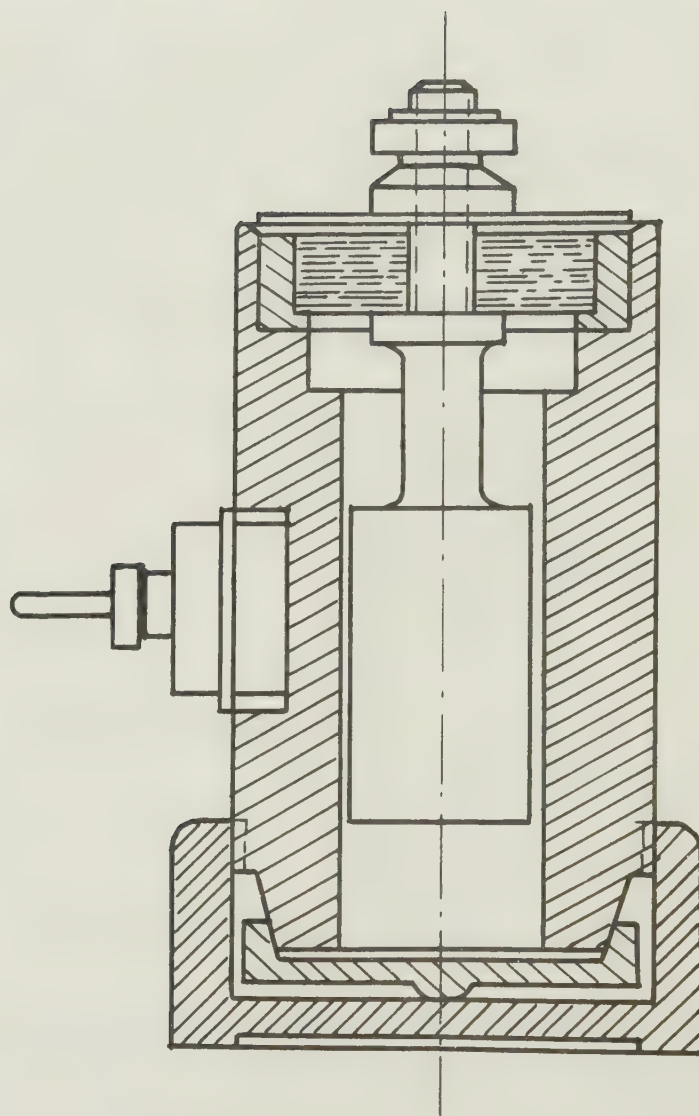


Figure 65

On a chauffé les deux cellules par un ensemble thermostaté à l'eau. En faisant varier lentement la température, nous avons constaté qu'un bon équilibre thermique s'établissait entre le bain du thermostat et la solution contenue à l'intérieur de la cellule, avec pratiquement la même température.

III. RESULTATS RELATIFS A DES SOLUTIONS SALINES DANS L'EAU

Nous avons envisagé le cas de solutions du sel de sodium d'ADN, extraits de thymus de veau et d'erythrocyte de poulet. (57) et (58) La concentration des solutions en ClNa a été maintenue légèrement supérieure à 10^{-3}M . Les solutions que nous avons préparées étaient peu dénaturées au départ, le tableau n°1 indique leurs caractéristiques.



CELLULE FERISOL.CS 501

Fig.64

TABLEAU N° 1

Désignation de la solution	Origine	Valeur de $\epsilon(P)$
V 22B	Thymus de veau	7100
V 243	Thymus de veau	7400
P 238	Erythrocyte de poulet	7400

Courbes de fusion diélectrique

En chauffant très lentement la solution d'ADN nous provoquons la dénaturation thermique de celle ci. Sur la figure 66 on observe que les variations de la constante diélectrique relative ϵ' en fonction de la température se traduisent par une sigmoïde. Le fait d'obtenir deux paliers, l'un avant dénaturation avec un incrément diélectrique important, et l'autre en fin de dénaturation, incite à appeler ce graphe courbe de fusion par analogie avec le phénomène de fusion classique. Nous avons déjà signalé dans notre introduction que des courbes de fusion avaient été mises en évidence par des mesures de polarisation rotatoire.

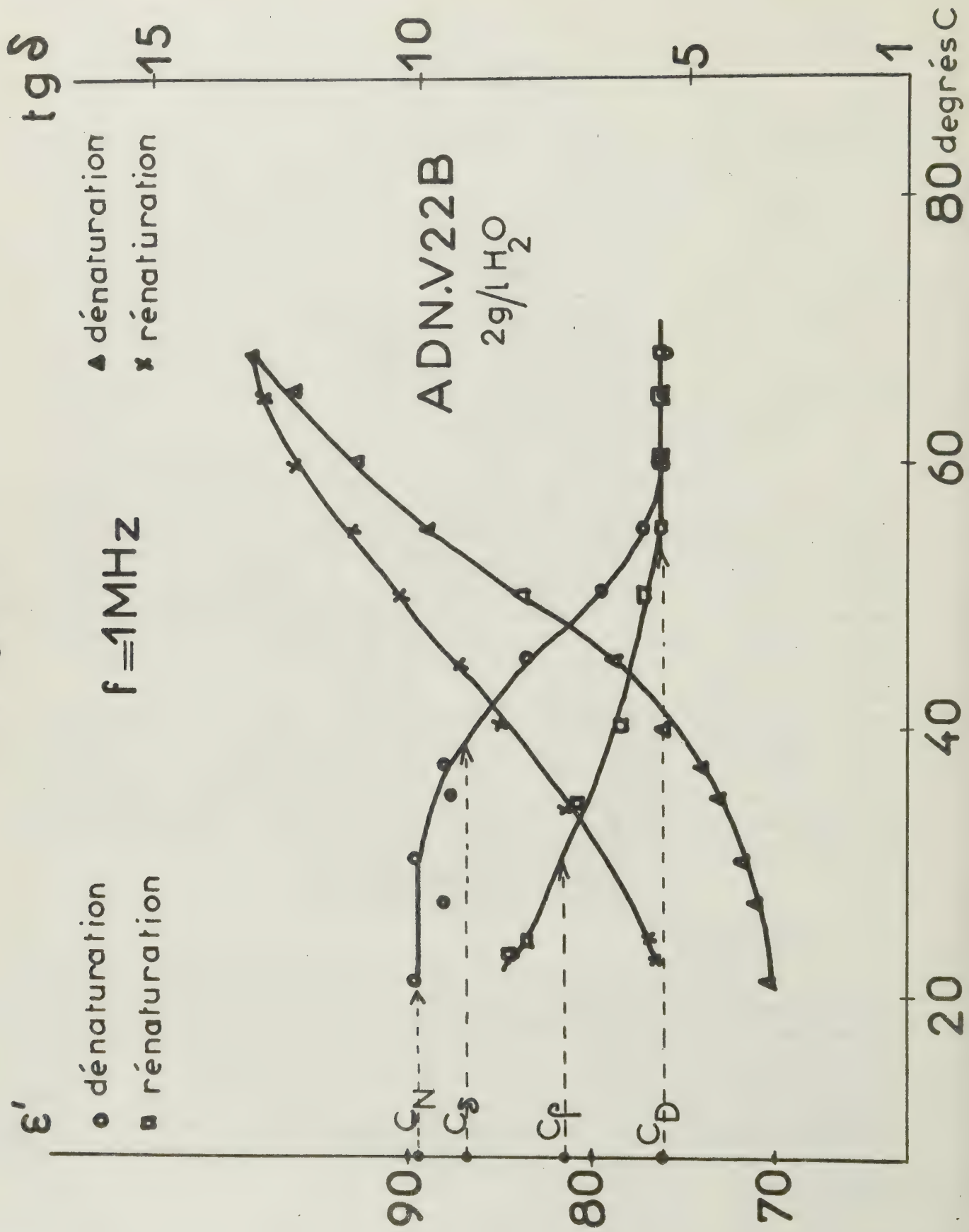
Pour toutes les courbes de fusion que nous avons tracées, nous avons opéré à la fréquence fixe de 1 M Hz. On n'observe pas de palier pour les variations de la tangente de l'angle de pertes $\tan \delta$, car même en l'absence de dénaturation $\tan \delta$ varie avec la température. Ces résultats sont en accord avec ceux indiqués par HANSS, VIOVY, et SADRON (56). La courbe de fusion montre que pour la solution étudiée la température critique de dénaturation se situe vers 45°C.

Renaturation

(59)

Ce phénomène a été signalé déjà par MARMUR et DOTY et coll. (60). Afin d'observer une éventuelle renaturation, nous avons pris la précaution de ne chauffer la solution initiale que jusque vers 65-70°C. Par refroidissement lent, on observe les courbes de renaturation pour ϵ' et $\tan \delta$, ce qui démontre que la dénaturation thermique ainsi provoquée n'était pas irréversible. Les derniers points que nous avons indiqués, à la fin de la renaturation, résultent du régime dynamique de refroidissement. Si, une fois arrivé à la température ambiante, on attend quelques heures, on observe une renaturation supplémentaire.

Fig.66



Cependant on ne retrouve pas la configuration initiale. Sur la figure (67), nous avons représenté l'évolution de la résistance série R_s et de la réactance série d'une solution d'ADN notée P 238.

Dénaturation totale

Pour confirmer les conclusions qui précèdent, nous avons dénaturé totalement la solution initiale avant le chauffage lent pendant lequel sont faites les mesures. La dénaturation totale a été effectuée en chauffant durant 40 minutes à 57° C une solution d'ADN P 238 à 1g par litre d'eau et en la refroidissant brusquement à 0°C.

La figure 68 montre que ε' ne présente plus d'évolution importante. Quant à $\text{tg} \delta$, sa variation est linéaire alors que précédemment (solution non dénaturée) on avait une sigmoïde.

Coefficients de dénaturation et de renaturation

Soient C_N et C_D , les capacités parallèles correspondant aux 2 paliers de la courbe de fusion (solution native et solution dénaturée), voir figure 66 et C_δ le point courant sur la courbe de dénaturation, C_p le point courant sur la courbe de renaturation.

On peut introduire les coefficients de dénaturation D, et de renaturation R par les formules :

$$D = \frac{C_N - C_\delta}{C_N - C_D}$$

$$R = \frac{C_p - C_D}{C_N - C_D}$$

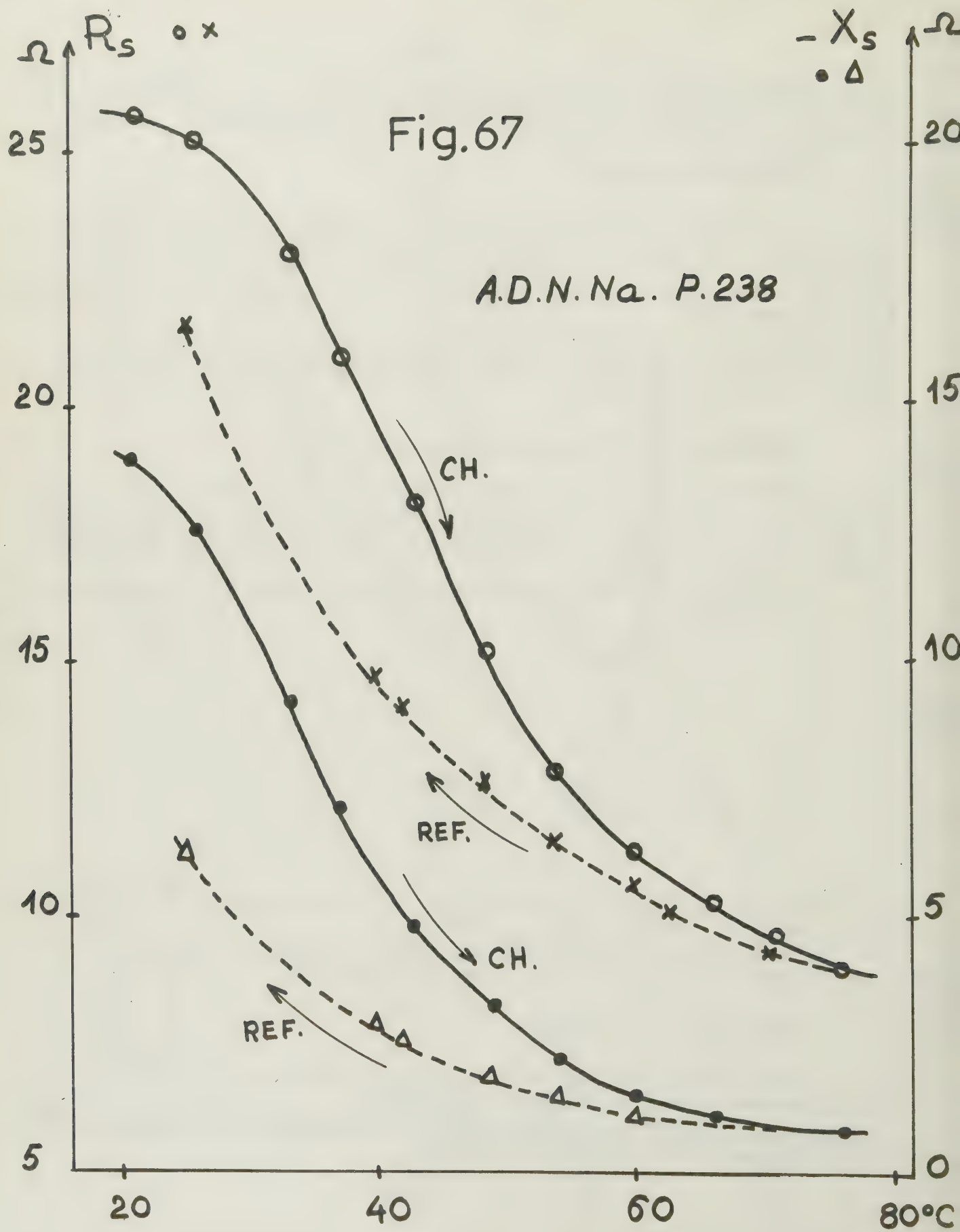
La figure (69) représente les variations de D et R en fonction de la température pour la solution d'ADN V 22B à 1g par litre.

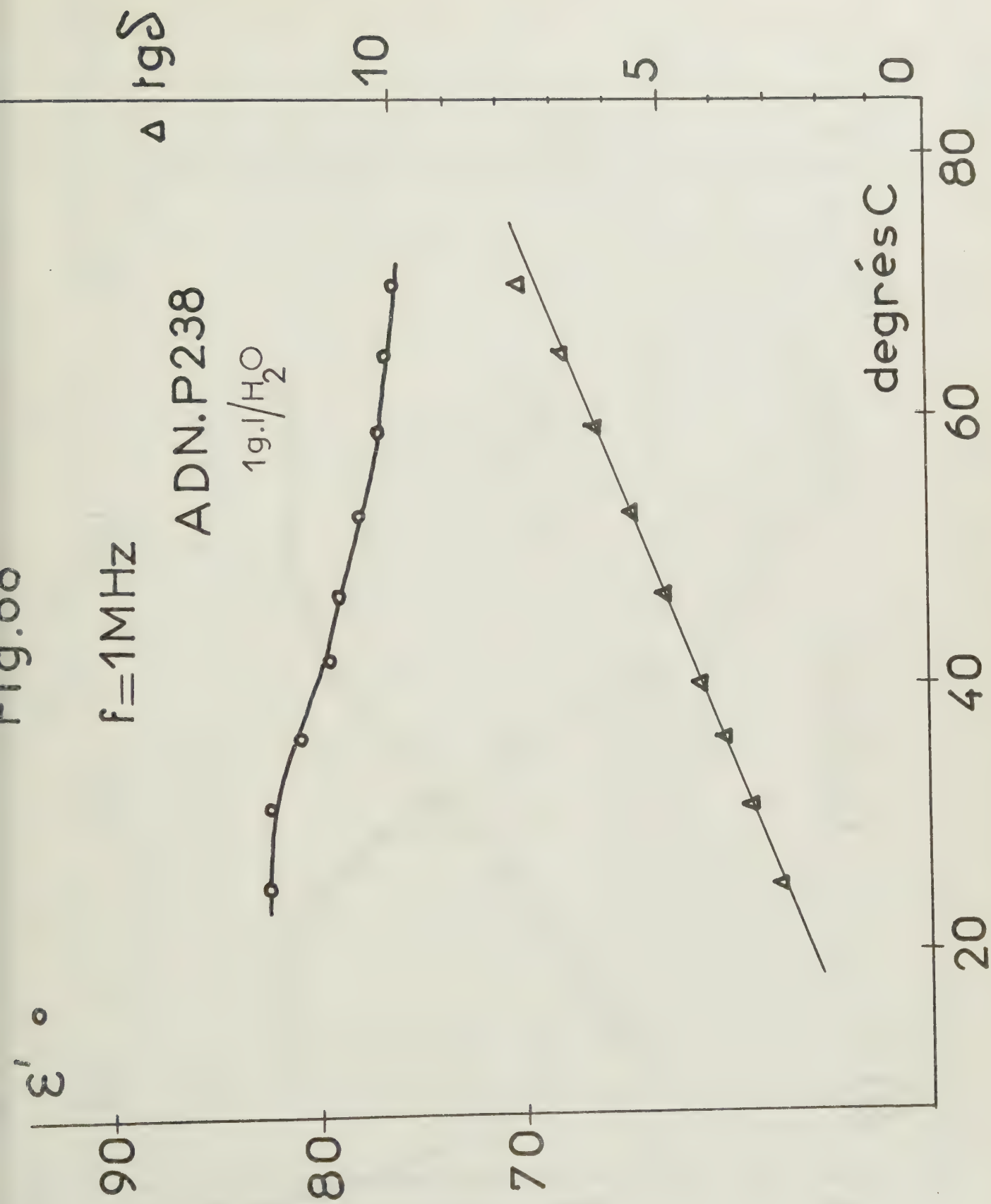
Les courbes relatives à $\text{tg} \delta$ ne présentant pas de paliers horizontaux, on ne peut définir facilement les coefficients correspondants.

Influence de la fréquence

Nous avons fait varier la fréquence entre 100 KHz et 5 MHz en maintenant la solution à une température fixe de 22°C.

La figure (70) représente les variations de ε' et $\text{tg} \delta$ pour la solution d'ADN V 22B à 2g par litre d'eau et non dénaturée.





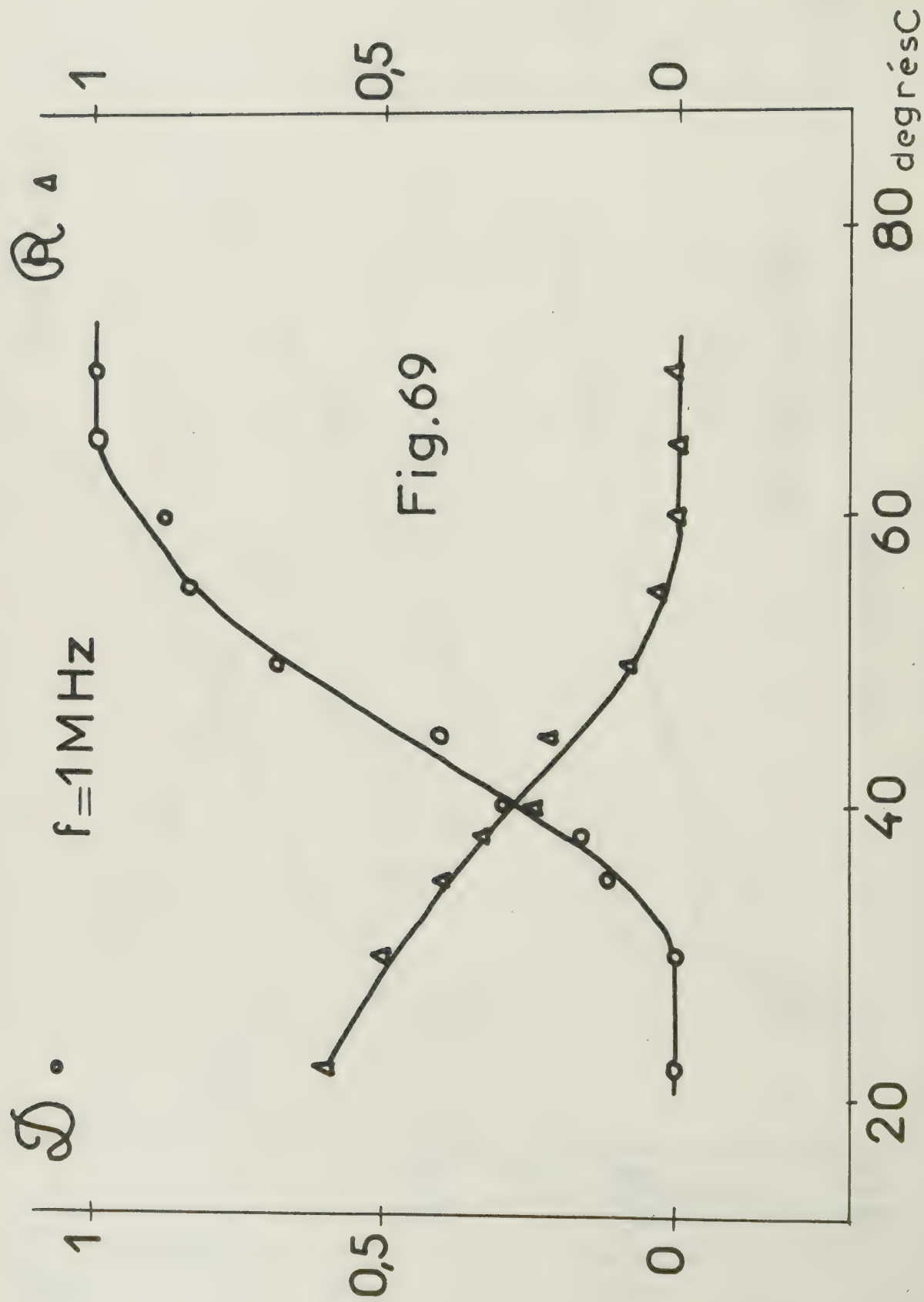
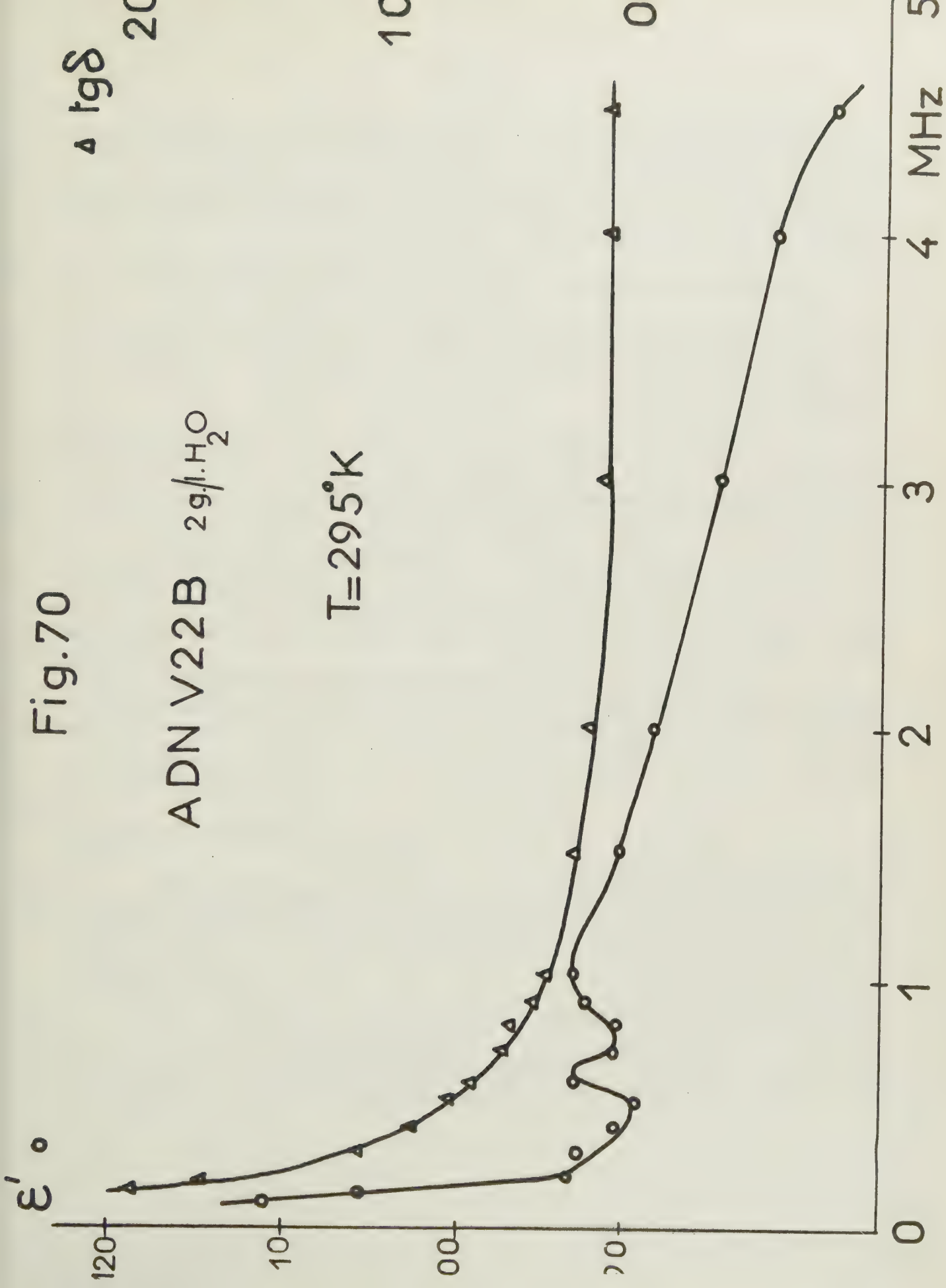


Fig.70

ADN V22B 2g/l.H₂O

T=295°K



On observe des accidents sur la courbe donnant ε' dans la région comprise entre 500 KHz et 1 MHz puis une décroissance qui s'accroît à partir de 4 MHz.

En ce qui concerne $\tan \delta$, la figure montre une décroissance d'allure hyperbolique, en allant vers les hautes fréquences.

IV. INTERPRETATION DES RESULTATS. VARIATION DE $\tan \delta$.

Nous allons montrer que cette variation de $\tan \delta$ est due essentiellement à la conductibilité ionique de la solution.

Soit ε_a la constante diélectrique absolue du polyélectrolyte, qui peut s'écrire sous la forme complexe :

$$\varepsilon_a = \varepsilon'_a - j\varepsilon''_a$$

Si on suppose que les pertes purement diélectriques sont négligeables, la conductivité σ à la pulsation ω est donnée par la relation

$$\varepsilon''_a = \sigma \cdot \omega^{-1} \quad \left(\text{nous développons tous nos calculs dans le système M K S A} \right)$$

Soit S la surface et x la distance entre les armatures d'un condensateur plan dont la capacité à vide est :

$$C_0 = \varepsilon_0 S x^{-1} \quad (\varepsilon_0 \text{ permittivité du vide})$$

La capacité du condensateur rempli par un diélectrique de permittivité devient :

$$C = \varepsilon'_a \varepsilon_0^{-1} C_0$$

Si le diélectrique est conducteur, en appelant G sa conductance on a :

$$G = R^{-1} = \rho^{-1} x^{-1} S = x^{-1} S \sigma, \text{ en introduisant la conductivité } \sigma = \rho^{-1}$$

(ρ résistivité équivalente).

L'amplitude complexe du courant traversant le condensateur lorsqu'on applique entre ses bornes une tension sinusoïdale $\mathcal{V}$ à la pulsation ω est :

$$\mathcal{I} = \mathcal{I}_0 \exp(j\omega t) = (j\omega C + G)$$

$$\text{Soit : } \mathcal{I} = \mathcal{V} (j\omega C + x^{-1} S \sigma) \quad (1)$$

$$\text{Or : } \mathcal{I} = j\omega C_0 \varepsilon \mathcal{V} = (j\omega \varepsilon'_a + \omega \varepsilon''_a) \frac{C_0}{\varepsilon_0} \mathcal{V} \quad (2) \quad \text{avec } \varepsilon = \varepsilon_0^{-1} \varepsilon_a$$

En comparant (1) et (2) il vient : $x^{-1} S \sigma = \omega C_0 \varepsilon_a'' \varepsilon_o^{-1}$

D'où en tenant compte de l'expression de C_0 : $\sigma = \omega \varepsilon_a''$
 Par ailleurs $\operatorname{tg} \delta$ est reliée à ε' et ε'' par la relation :

$$\operatorname{tg} \delta = \varepsilon'' \varepsilon'^{-1} = K^{-1} C_p^{-1} \varepsilon''$$

K étant un coefficient de proportionnalité et C_p la capacité parallèle équivalente de la solution.

$$\text{D'où : } \sigma = K \cdot \omega \cdot C_p \cdot \operatorname{tg} \delta$$

Si les pertes mesurées ($\operatorname{tg} \delta$) sont la traduction d'une conduction ionique il en résulte que le produit $\omega C_p \operatorname{tg} \delta$ doit être constant à une température fixe. La figure 71 représente les variations de $(C_p \operatorname{tg} \delta)^{-1}$ en fonction de la fréquence de mesure $\omega / 2\pi$ pour la solution d'ADN V 22B non dénaturée.

On distingue nettement deux parties sur la courbe. Il y a d'abord un segment de droite s'étendant depuis l'origine des axes jusqu'au point d'abscisse 2 MHz. Puis la courbe s'écarte de la droite, les points expérimentaux se disposant en dessous et donnant une concavité tournée vers le bas.

Nous avons pu tracer de telles courbes pour les autres solutions mentionnées plus haut.

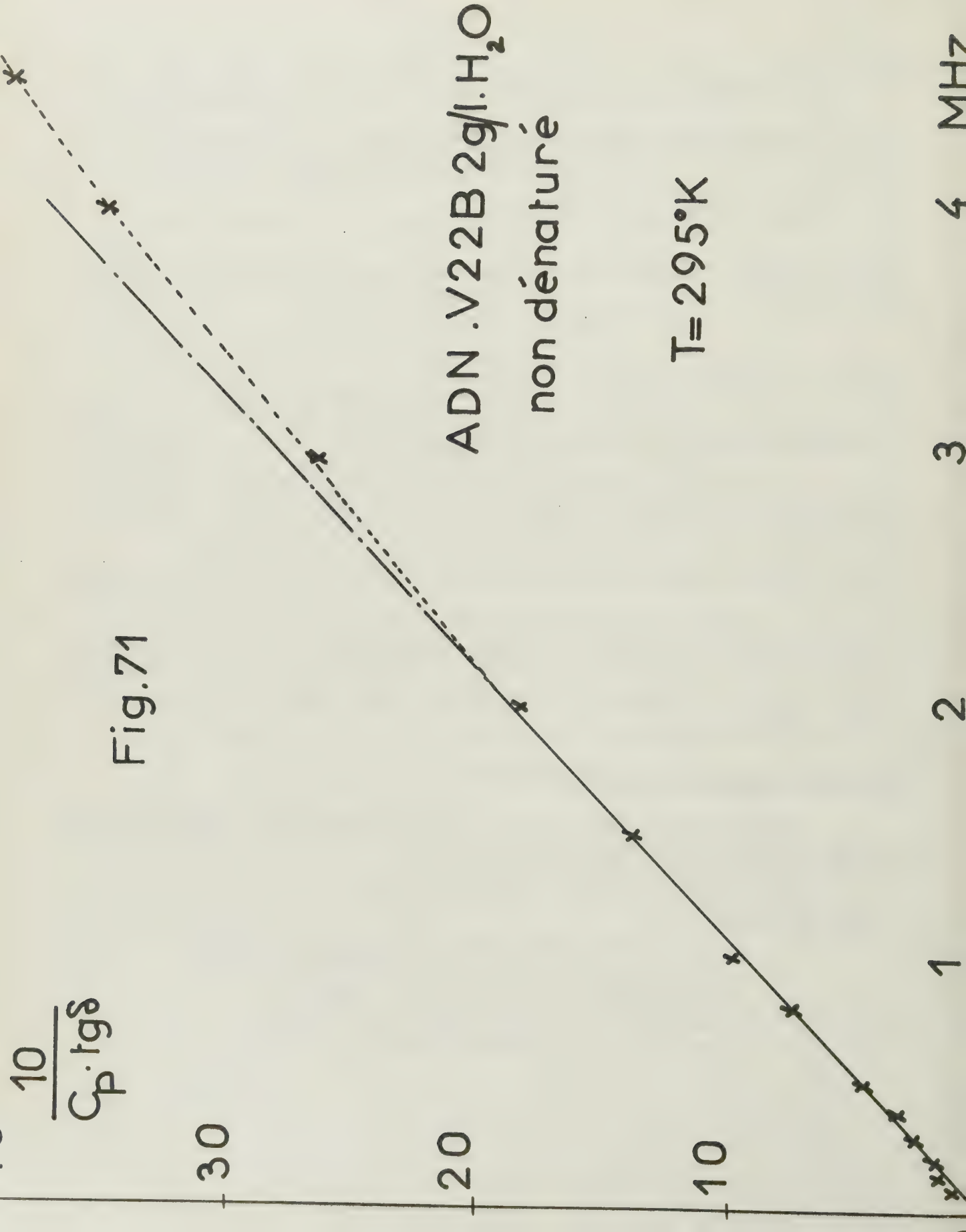
Cela nous montre que jusque vers 2 MHz les pertes mesurées sont dûes essentiellement à la conductivité ionique. A la fréquence de mesure (1 MHz) à laquelle nous avons tracé les courbes de fusion diélectrique les variations de $\operatorname{tg} \delta$ traduisent l'influence et la modification de l'entourage ionique de la macromolécule.

Entourage ionique de la macromolécule

Ayant opéré sur des solutions du sel de sodium de l'ADN en présence de NaCl, nous pouvons supposer que la majeure partie de l'atmosphère ionique est constituée par les ions Cl^- et Na^+ .

Nous pouvons déduire de nos résultats la concentration ionique dans nos solutions. Soient :

- n le nombre d'ions contenus dans un mètre cube de solution
- e la valeur absolue de la charge de l'électron
- μ la mobilité moyenne en $\text{m}^2 / \text{seconde} \cdot \text{volt}$
- σ la conductivité de la solution
- $f = \omega (2\pi)^{-1}$ la fréquence à laquelle on opère.



La conductivité est donnée par la relation : $\sigma = n e \mu$

$$\text{Or : } \sigma = \varepsilon_a'' \omega = \varepsilon_a' \cdot \text{tg} \delta \cdot \omega$$

Si nous introduisons la constante diélectrique relative $\varepsilon = \varepsilon_a \varepsilon_0^{-1}$, $\varepsilon_0 = (36\pi \cdot 10^9)^{-1}$ étant la permittivité du vide, le nombre n de porteurs de charge par mètre cube est :

$$n = \frac{\varepsilon_a' \text{tg} \delta \cdot \omega}{e \mu} = (18 \cdot 10^9)^{-1} \cdot \frac{\varepsilon' \cdot \text{tg} \delta \cdot f}{e \mu}$$

Nous avons effectué les calculs numériques pour $f = 1 \text{ M Hz}$ en prenant pour mobilité μ des ions Na et Cl la valeur moyenne $\mu = 5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2/\text{seconde volt}$.

Si nous admettons que tous les ions présents dans la solution proviennent de ClNa, on peut en déduire la molarité M en chlorure de sodium. Dans le tableau n°2 nous donnons les valeurs obtenues à partir de deux solutions d'ADN de provenance et de concentration différentes.

Nous avons représenté de plus, dans la dernière colonne, le nombre d'ions présents par motif monomère tétranucléotidique. En additionnant les masses des quatre nucléotides formant le motif monomère théorique (acides désoxyguanylique, désoxyadénylique, désoxycytidylique et désoxythymidylique), on obtient la masse molaire :

$$M_T = 1307,86$$

On a adopté en première approximation la valeur 1300. Pour une solution contenant c grammes par litre d'ADN pur, le nombre théorique de motifs monomères par litre est :

$$\gamma = \frac{c}{1300} N \quad N \text{ étant le nombre d'Avogadro.}$$

Nous avons envisagé deux cas extrêmes pour la solution P 238 :

- un état initial correspondant au produit non dénaturé
- un état final correspondant à la dénaturation thermique quasi totale à 97°C .

Les résultats relatifs à la solution V 22B montrent l'influence d'une dénaturation thermique moins poussée et d'une renaturation partielle. Ce tableau montre qu'il y a augmentation de la concentration ionique lors de la dénaturation thermique; il y a expulsion d'ions hors de la macromolécule initiale.

TABLEAU N°2

Solution d'ADN	c en g/l	Etat	ϵ'	$\text{tg } \delta$	n par litre $\times 10^{21}$	Molarité $\times 10^3 \text{M}$	η
P 238	1	non dénaturé	86	1,99	1,2	1	$5 \cdot 10^{20}$
P238	1	Dénaturé à 97°C pendant 40'	83,2	3,02	1,75	1,45	$5 \cdot 10^{20}$
V 22B	2	non dénaturé	89,5	3,5	2,2	1,85	10^{21}
V 22B	2	Dénaturé à 60°C	76	11,2	4,7	3,6	10^{21}
V 22B	2	Renaturé à 22°C	83,5	5,4	3,1	2,5	10^{21}

Le nombre d'ions expulsés est donné dans le tableau n° 3 dans lequel nous avons porté le nombre moyen d'ions expulsés par motif monomère et par pas de la double hélice, dans le cas du polymère non dénaturé.

Selon WILKINS (61) , il existe 10 nucléotides par brin et par pas d'hélice pour un ADN dans la forme B. Donc nous avons 20 nucléotides au total par pas d'hélice et 5 motifs monomères tétranucléotidiques.

Selon SADRON et LUZZATI (62), (63) l'ADN non dénaturé en solution serait représenté par bâtonnets rigides cylindriques , entourés d'une couche d'eau pure impénétrable aux ions environnants. Ce qui n'exclut pas qu'il puisse y avoir des ions et des molécules d'eau à l'intérieur de la couche de solvation. La dénaturation conduirait à la rupture de cette pellicule et à une séparation des doubles hélices avec expulsion des ions emprisonnés. (figure 72)

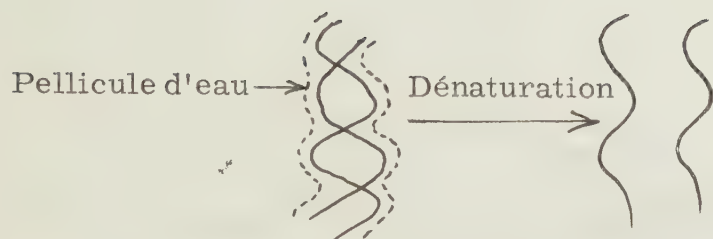


Figure 72

TABLEAU N° 3

Transition	Nombre d'ions n' libérés dans un litre de solution	$n'/\sqrt{V}$	Nombre d'ions libérés par pas d'hélice
P 238 $\longrightarrow$ P 238 dénaturé non dénaturé totalement à 97°C	$5,5 \cdot 10^{20}$	$\simeq 1$	$\simeq 5$
V 22B $\longrightarrow$ V 22B dénaturé non dénaturé à 60°C	$2,5 \cdot 10^{21}$	$\simeq 2,5$	$\simeq 12,5$
V 22B $\longrightarrow$ V 22B partiellement non dénaturé renaturé à 22°C	$9 \cdot 10^{20}$	$\simeq 1$	$\simeq 5$

En dehors des ions Na^+ qui neutralisent les groupements négatifs phosphoriques (figure 73), il peut subsister à l'intérieur des doubles hélices des espaces libres susceptibles d'être occupés par des ions de petites dimensions. Théoriquement l'espace libre entre deux plateaux de bases successifs est de $3,4 \text{ \AA}$, mais les atomes constituant ces dernières combtent presque tout l'écart le long de l'axe de la double hélice. D'après le modèle construit par WILKINS (figure 74), on remarque que l'on peut introduire de petits ions dans les interstices libres.

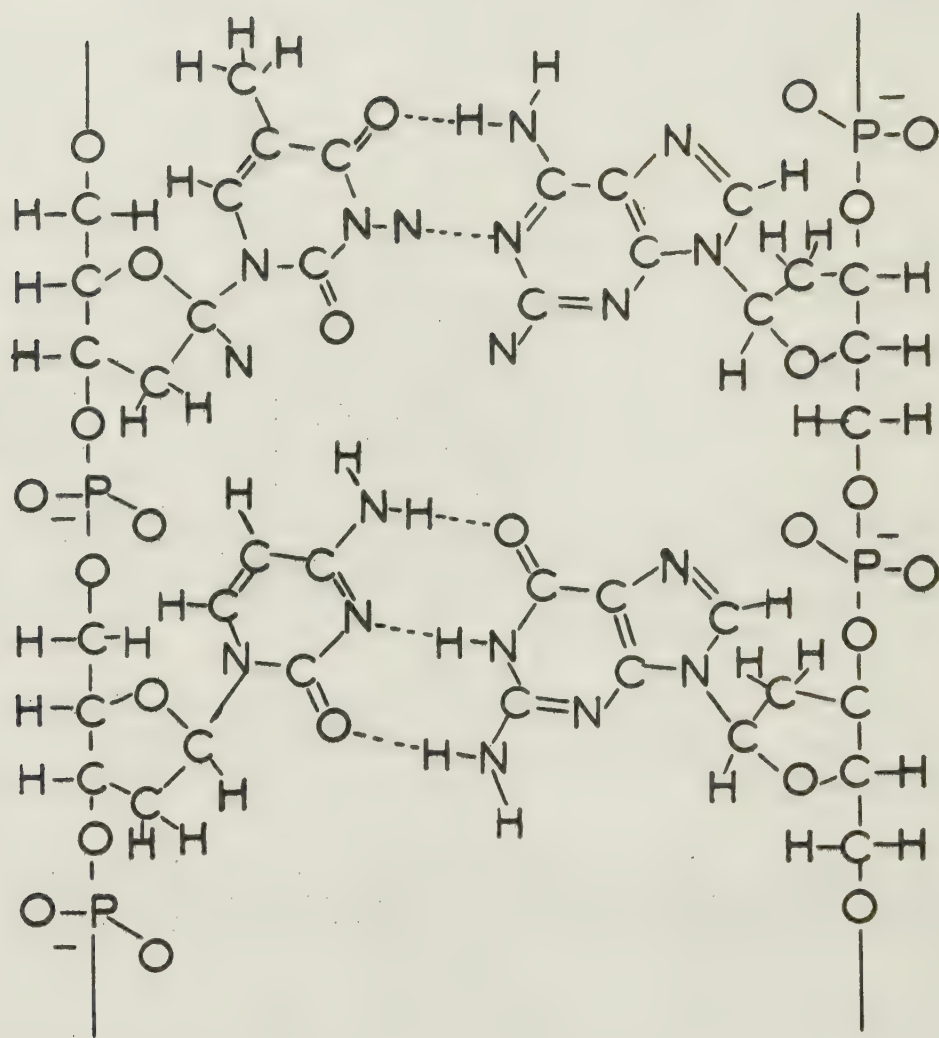


Fig.73

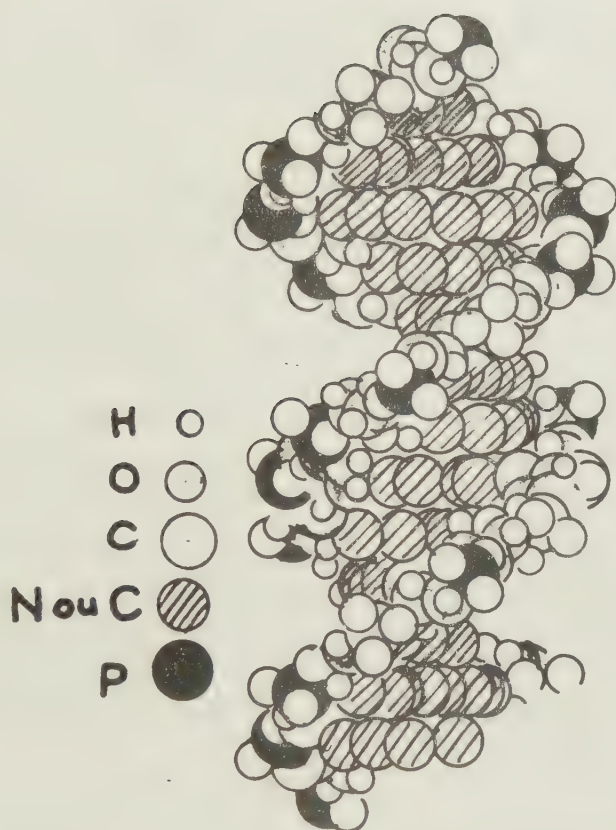


Fig.74

Les rayons ioniques de Na^+ et Cl^- étant respectivement de 0,95 Å et de 1,81 Å, on voit que les ions Na^+ ont plus de facilité pour s'y placer, mais il faut aussi faire intervenir les forces électrostatiques. On conçoit que ces ions puissent avoir une action stabilisatrice sur la macromolécule dans l'état natif ou peu dénaturé.

La variation de la charge et de la mobilité des macromolécules d'ADN lors de la dénaturation thermique a été signalée à l'aide d'expériences tout à fait différentes (électrophorèse) par INMAN et JORDAN

Variations de ϵ' aux fréquences élevées

La courbe représentée sur la figure 70 montre que la variation de ϵ' vers les basses fréquences est assez complexe; plusieurs mécanismes peuvent intervenir, mais les phénomènes de nature ionique seraient prédominants. Nous y reviendrons plus loin. Au-delà du MHz, il y a un phénomène simple et net: c'est la décroissance lorsqu'on se déplace vers les fréquences élevées, cette décroissance s'accusant surtout à partir de 4 MHz.

On peut suggérer que l'on se trouve en présence d'une relaxation du type dipolaire. La fréquence critique se trouverait un peu au-delà de la gamme de nos mesures. Ce résultat serait en accord avec les travaux de divers expérimentateurs, notamment JERRARD et SIMMONS (53) et JOHNSON et NEALE (64). Jerrard et Simmons en travaillant sur des solutions d'ADN dialysées dans l'eau pure à 4°C, ont mis en évidence un phénomène de relaxation du type dipolaire. La fréquence critique dépendait de la concentration en ADN et se déplaçait vers les hautes fréquences lorsque la concentration augmentait (ces auteurs trouvent une fréquence critique de l'ordre de 1 MHz pour une concentration de 460 mg d'ADN par litre d'eau).

Comme nous l'avons signalé plus haut, l'influence ionique est moins prépondérante au-delà de 2 MHz; aussi peut-on faire un rapprochement entre nos résultats portant sur des solutions salines et ceux de ces auteurs.

L'ADN dialysé étant certainement dénaturé complètement, on voit que son comportement se rapproche de celui observé sur les solutions non dénaturées. Dans nos mesures, l'influence de la fréquence est assez analogue pour des solutions peu dénaturées et dénaturées thermiquement.

Introduction d'un moment dipolaire lié aux mouvements ioniques.

Les expériences déjà anciennes de G. JUNGNER (54) et I. JUNGNER (55) avaient amené leurs auteurs à prédire l'existence d'un moment dipolaire perpendiculaire à l'axe de la macromolécule dont la valeur varierait avec le degré de polymérisation. D'autres auteurs ont conclu d'une façon analogue. En fait, le comportement dépend beaucoup de l'environnement de la macromolécule.

Il dépend aussi de la fréquence de mesure, car des mécanismes différents peuvent être prépondérants suivant la gamme de fréquence. Si nous nous attachons maintenant au cas des fréquences pas trop élevées ($f \ll 2$ MHz), avec un entourage ionique important, il est fort probable que le moment dipolaire éventuel n'a pas l'origine habituelle. Il peut résulter du mouvement des charges de l'atmosphère ionique le long de la macromolécule en forme de bâtonnet rigide. De telles considérations ont été développées par O' KONSKI (65), INGRAM et JERRARD (66), SCHWARZ (67) et MANDEL (68).

D'autres auteurs parlent d'effet Maxwell-Wagner ou Debye-Falkenhagen sans que l'on puisse dégager une théorie tenant compte de la configuration de la macromolécule dans le bain ionique.

La théorie de Debye-Hückel permet de calculer théoriquement la fonction d'énergie libre électrostatique pour un modèle en forme de bâtonnet cylindrique entouré d'ions qui peuvent le pénétrer ou non. (HILL (69) et TANFORD (70)).

Nous nous appuierons pour interpréter nos résultats sur le modèle de Mandel, que nous rappellerons sommairement et que nous compléterons.

MODELE DE MANDEL

Mandel (68) a développé un modèle de macromolécule chargée en forme de bâtonnet rigide. Sur le cylindre de longueur L , existent N sites chargés positivement distribués régulièrement et, créant une suite de puits d'énergie potentielle pour les charges négatives schématisés par des créneaux. Il introduit aussi n charges négatives, mobiles le long du bâtonnet, de valeur $-ze$ (e étant la valeur absolue de la charge de l'électron).

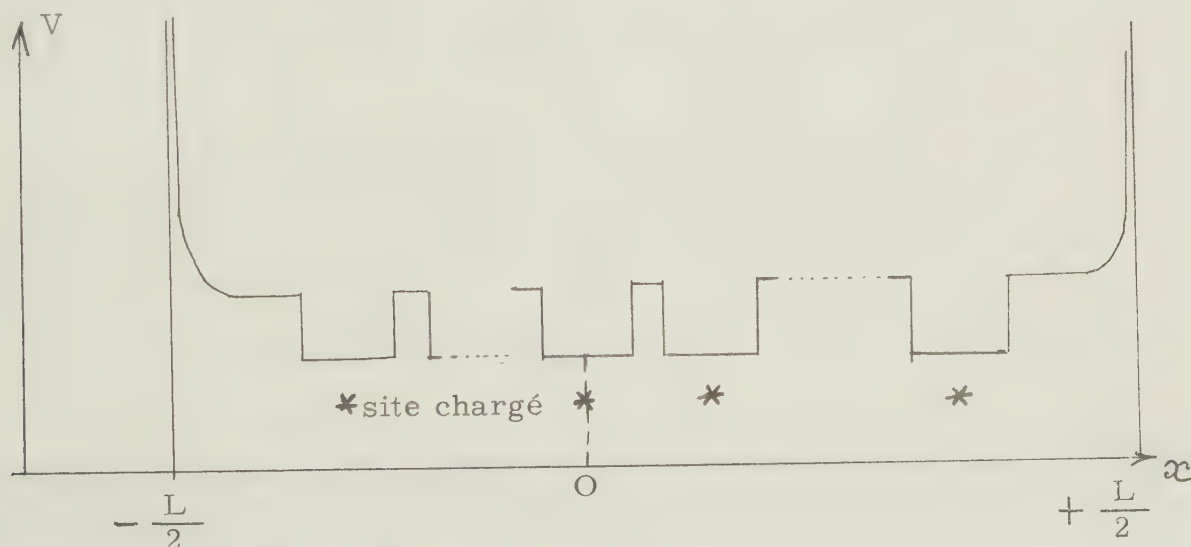


Figure 75

Ces charges se répartissent régulièrement le long du cylindre en l'absence de champ électrique. Nous simplifierons le calcul de Mandel, sans que le résultat final soit modifié, en admettant que ces charges se trouvent uniquement dans les N puits. Nous ferons les calculs dans le système électrostatique qui s'applique directement.

En présence d'un champ électrique E, dirigé suivant l'axe Ox de la molécule, la distribution est modifiée, d'où l'apparition d'un moment dipolaire que nous allons évaluer. Le centre O de la macromolécule correspondant à un puits (N est alors supposé impair, ce qui ne restreint pas la généralité car, de toutes façons, N est élevé et peut très bien par la suite être pris impair), la probabilité d'occupation par une charge négative du puits d'abscisse $x_k = k b$ (k entier pouvant varier de $-(N-1)/2$ à $+(N-1)/2$, b étant l'espacement des puits ($b \approx L/N$), est proportionnelle à

$$p_k = \exp(-\beta w_k), \quad w_k \text{ étant l'énergie potentielle à}$$

l'abscisse x_k de la charge -ze dans le champ E.

(β est égal à $1/KT$, où K est la constante de Boltzmann et T la température absolue)

On a $w_k = ze x_k E$ (en prenant $w_k = 0$ pour $x = 0$)

Le moment électrique longitudinal résultant est alors :

$$\begin{aligned} m &= -n z e \frac{\sum_k p_k x_k}{\sum_k p_k} \\ m &= -n z e b \frac{\sum_k k \cdot \exp(-\beta z e k b E)}{\sum_k \exp(-\beta z e k b E)} \\ &= -n \lambda \frac{\sum_k k \exp(-k \lambda \beta E)}{\sum_k \exp(-k \lambda \beta E)} \end{aligned}$$

en posant $z e b = \lambda$

Avec les valeurs usuelles des diverses grandeurs, on peut dans chaque exponentielle ne conserver que les deux premiers termes du développement en série.

La somme figurant au dénominateur se réduit alors à N. Au numérateur si l'on associe, dans la somme, les contributions correspondant aux deux valeurs opposées k et -k, il reste à sommer $-2 \lambda \beta E k^2$ pour les valeurs positives de k ; d'où :

$$m = 2 \lambda^2 \beta E \frac{n}{N} \sum_{k=1}^{\frac{N-1}{2}} k^2$$

pour N élevé la somme vaut sensiblement $N^3/24$ d'où finalement

$$m = \frac{n \lambda^2 \beta N^2}{12} E$$

et la polarisabilité d'un bâtonnet est $\alpha_0 = \frac{\lambda^2 n \beta N^2}{12}$ pour un champ dirigé suivant l'axe.

Plus généralement si l'on a un angle θ entre les directions de l'axe du bâtonnet et du champ on prendra la polarisabilité :

$$\alpha_\theta = \frac{n \lambda^2 \beta N^2}{12} \cos \theta = \alpha_0 \cos \theta$$

(le moment dipolaire étant toujours supposé schématiquement dirigé suivant l'axe). Avec sa variation en $1/T$, elle rappelle tout à fait la polarisabilité dipolaire; α diminue (toutes choses égales par ailleurs) quand la température s'élève.

Il est alors facile pour un ensemble de bâtonnets, de calculer la polarisabilité par unité de volume, en tenant compte de leur orientation possible dans le champ. Le calcul se ramène à celui de la moyenne de $\cos^2 \theta$, car il faut prendre la composante " utile " suivant la direction du champ du moment du bâtonnet :

$$\alpha_\theta E \cos \theta = \alpha_0 E \cos^2 \theta$$

Dans le cas particulier, où toutes les directions des bâtonnets sont à priori également probables on a :

$$\overline{\cos^2 \theta} = \frac{1}{2} \int_0^{\pi/2} \cos^2 \theta \cdot \exp (\beta \alpha_0 E \cos \theta \cdot E \cos \theta) \sin \theta \cdot d\theta$$

(θ est nécessairement compris entre 0 et $\pi/2$).

L'exposant de l'exponentielle étant petit, celle-ci peut-être en général réduite à l'unité, il n'y a pas d'effet d'orientation appréciable et $\overline{\cos^2 \theta} = 1/6$,

d'où , avec Q bâtonnets par unité de volume, la polarisabilité par unité de volume

$P/E = (1/6) Q \alpha_0 = \alpha'$, en confondant champ local et champ macroscopique.

Les orientations ne sont pas toujours disposées au hasard et le résultat est alors différent, mais on peut toujours conclure que la polarisabilité par unité de volume est de la même forme que la polarisation d'un bâtonnet orienté dans la direction du champ.

Notre modèle peut s'appliquer également aux fibres humides du sel de sodium de l'ADN, dont les propriétés diélectriques seront précisées plus loin. Il ne faut pas du tout dans ce cas, faire intervenir d'effet d'orientation dans le champ.

L'ordre de grandeur de la polarisation ainsi calculée est telle que le phénomène peut permettre l'interprétation de nos résultats. Pour un bâtonnet d'ADN avec $z = 1$, $b = 3 \cdot 10^{-8}$ cm, $N = 10^4$, on trouve $\alpha_0 = 4,5 \cdot 10^{-14}$ n uescgs. On en déduit, pour une solution à 1g par litre qui correspond à 10^{14} bâtonnets par cm^3 , la polarisabilité par unité de volume (cm^3) $\alpha' = 0,75$ n uescgs.

$$\text{Or} \quad \alpha' = \frac{\epsilon - 1}{4\pi}$$

$$\text{D'où} \quad \epsilon = 1 + 4\pi\alpha' \quad \text{on a donc sensiblement} \quad \epsilon = 1 + 3\pi n$$

On voit qu'avec une valeur petite de n , on a déjà une contribution très importante.

Examinons maintenant l'influence de la température et de la dénaturation. L'expérience ne donne pas de diminution de ϵ' quand la température augmente (effet de la dénaturation mise à part), ce serait plutôt l'inverse. Cela n'a rien d'étonnant car la configuration de la solution est modifiée par la température; il s'uffit par exemple d'admettre des possibilités accrues d'orientation des bâtonnets dans la direction du champ quand la température s'élève pour que ϵ' augmente, mais d'autres quantités peuvent varier aussi.

En ce qui concerne l'influence de la dénaturation, elle s'explique bien par notre modèle : la dénaturation étant considérée à la limite comme résultant de la séparation en deux des bâtonnets, il faut doubler le nombre des bâtonnets et diviser N par 2 pour chacun; au total la polarisation due aux macromolécules est divisée par 2, ce qui est dans le sens convenable. Il va de soi qu'une interprétation quantitative précise est difficile, du fait de la simplification apportée par le modèle (par exemple il faudrait distinguer le champ local et le champ macroscopique). Il faut en outre tenir compte du solvant dont la contribution est importante, et cette contribution pour un solvant ionique n'est pas elle-même très simple.

Influence de la fréquence d'après le modèle adopté :

On va faire intervenir l'inertie des déplacements des charges mobiles le long de la macromolécule.

La théorie s'appliquera aussi aux fibres humides étudiées plus loin. Elle sera ici également très schématique; en particulier on ne fera pas intervenir l'effet Maxwell-Wagner, qui joue certainement un rôle important, au moins dans le cas des fibres.

Mandel, dans ce domaine, fait intervenir une certaine mobilité des ions le long du bâtonnet. Nous pensons que cette façon de procéder est trop simplifiée, les mouvements se faisant en fait, par sauts discrets d'un puits à un puits voisin.

Nous allons développer cette conception. Rappelons d'abord le modèle classique à deux puits 1 et 2. Soit n_1 et n_2 , le nombre de particules se trouvant dans les deux puits à l'instant t ($n_1 + n_2 = n = \text{constante}$) On a :

$$\frac{dn_1}{dt} = -n_1 w_{12} + n_2 w_{21}$$

$$\frac{dn_2}{dt} = -n_2 w_{21} + n_1 w_{12}$$

En faisant intervenir les probabilités de transfert d'un puits à l'autre dans l'unité de temps, w_{12} et w_{21} . Ces probabilités en présence du champ E sont différentes, les énergies potentielles étant différentes dans les deux puits: on a, en supposant que le champ est dans le sens $1 \rightarrow 2$

$$w_{21} = w_{12} \exp(\beta z e b E) \quad (1), b \text{ étant la distance des deux puits.}$$

En faisant la différence membre à membre des deux équations précédentes on a :

$$\frac{d(n_1 - n_2)}{dt} = -(n_1 - n_2)(w_{21} + w_{12}) + (w_{21} - w_{12})n$$

dans cette relation on peut prendre $w_{21} + w_{12} \approx 2 w_{12}$

$$\text{et} \quad w_{21} - w_{12} = w_{12} \beta z e b E$$

$$\text{D'où l'on tire, avec } n_1 - n_2 = \gamma \quad \frac{1}{2w_{12}} \frac{d\gamma}{dt} = -\gamma + \frac{1}{2} \beta z e b E n$$

L'intégration, avec pour $t = 0$ $n_1 = n_2 = n/2$, donne

$$\gamma = \frac{n}{2} \beta z e b E \left[1 - \exp(-2 W_{12} t) \right]$$

L'établissement de l'équilibre se fait donc exponentiellement avec la constante de temps

$$\tau = 1 / 2 w_{12}$$

considérons maintenant le cas de 3 puits, le plus simple de notre modèle, correspondant à $k = -1, 0$ et 1 . Nous admettrons que des transitions simples sont seules possibles d'un puits à un autre puits avec deux probabilités de transition, suivant le sens du transfert, w_{12} et w_{21} , toujours liées par la relation (1).

On a par suite :

$$\begin{aligned} (2) \quad & \left\{ \begin{aligned} \frac{d n_{-1}}{dt} &= - n_{-1} w_{12} + n_0 w_{21} \\ (3) \quad & \frac{d n_0}{dt} = - n_0 (w_{21} + w_{12}) + n_{-1} w_{12} + n_1 w_{21} \\ (4) \quad & \frac{d n_1}{dt} = - n_1 w_{21} + n_0 w_{12} \end{aligned} \right. \end{aligned}$$

On a : $n_{-1} + n_0 + n_1 = n = \text{constante}$

Posons d'autre part $n_{-1} + n_1 = \mu$ et $n_{-1} - n_1 = \gamma$

μ et γ peuvent être considérées comme les deux inconnues du problème. On obtient facilement pour les déterminer le système suivant, déduit des équations (2) et (4) du précédent, en tenant compte de la relation (1), simplifiée sous la forme

$$w_{21} = w_{12} (1 + \beta z e b E) = w_{12} (1 + \lambda \beta E) \quad (5)$$

On a d'abord

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d n_{-1}}{dt} = \left[- n_{-1} (2 + \lambda \beta E) - n_1 (1 + \lambda \beta E) + n (1 + \lambda \beta E) \right] w_{12} \\ \frac{d n_1}{dt} = \left[- n_{-1} \quad \quad \quad - n_1 (2 + \lambda \beta E) + n \right] w_{12} \end{array} \right.$$

Puis :

$$(6) \quad \left\{ \frac{d \gamma}{dt} = \frac{1}{2} \left[- \mu \lambda \beta E - \gamma (2 + \lambda \beta E) + 2 n \lambda \beta E \right] w_{12} \right.$$

$$(7) \quad \left\{ \frac{d \mu}{dt} = \frac{1}{2} \left[- \mu (6 + 3 \lambda \beta E) + \gamma \lambda \beta E + 2 n (2 + \lambda \beta E) \right] w_{12} \right.$$

Ces équations peuvent être simplifiées en tenant compte du fait que $\lambda \beta E \ll 1$.
Considérons d'abord l'équation (7) ; elle se réduit à

$$\frac{d \mu}{dt} = - 3 w_{12} \mu + 2 w_{12} n$$

A l'instant zéro d'application du champ E, μ est égal à $2/3$ de n puisque les 3 puits sont également occupés. Au bout d'un temps infini on retrouve le même résultat d'après l'équation précédente où l'on a fait $\frac{d \mu}{dt} = 0$

Cette équation a alors la solution $\mu = \frac{2}{3} n = \text{constante}$. Ce résultat pouvait être prévu.

Considérons alors l'équation (6), sous forme simplifiée et tenant compte de la valeur de μ , elle s'écrit :

$$(8) \quad \frac{d \gamma}{dt} = - w_{12} \gamma + \frac{2}{3} w_{12} n \lambda \beta E$$

Compte tenu des conditions aux limites la solution de l'équation (8) est :

$$\gamma = \frac{2}{3} n \lambda \beta E \left[1 - \exp (- w_{12} t) \right]$$

L'évolution est du même genre que dans le cas de deux puits, mais la constante de temps de l'exponentielle est cette fois 2τ . Ce résultat pouvait être prévu.

On peut généraliser sans calcul pour le cas des N puits de potentiel. La polarisation sous l'action du champ E, supposé dirigé suivant l'axe du bâtonnet peut être considéré comme résultant du transfert de charges $-ze$ des puits associés aux valeurs positives de k vers les puits $-k$ correspondants; ceci est valable statistiquement pour un ensemble de bâtonnets (il ne faut pas raisonner sur un bâtonnet isolé).

Le transfert de charges de l'abscisse k b à l'abscisse $-k b$ correspond on l'a vu, en moyenne pour un bâtonnet, au moment dipolaire statique

$$m_{ks} = 2\lambda^2 \beta E \frac{n}{N} k^2$$

On peut penser y associer la constante de temps $2k\tau$.

En régime dynamique à la pulsation ω des formules classiques de Debye peuvent alors être appliquées sous la forme : (en laissant de côté la contribution du solvant)

$$\epsilon'_k - 1 = \frac{\epsilon'_{ks} - 1}{1 + \omega^2 (2k\tau)^2} \quad \epsilon''_k = \frac{(\epsilon'_{ks} - 1) \omega (2k\tau)}{1 + \omega^2 (2k\tau)^2}$$

ϵ'_k et ϵ''_k caractérisant la constante diélectrique complexe liée à l'entier k, ϵ'_{ks} étant la constante diélectrique statique correspondante.

On a ainsi des expressions de la forme (en négligeant l'unité devant ϵ'_k) :

$$\epsilon'_k = \frac{r k^2}{1 + s^2 \omega^2 k^2} \quad \text{et} \quad \epsilon''_k = \frac{u k^3}{1 + s^2 \omega^2 k^2}$$

r, s et u étant des coefficients.

Autotal il y a une distribution des temps de relaxation et on aura sensiblement ϵ' par une intégration si N est assez élevé

$$\epsilon' = \int_0^{N/2} \frac{r k^2 dk}{1 + s^2 \omega^2 k^2} \quad \epsilon'' = \int_0^{N/2} \frac{u k^3}{1 + s^2 \omega^2 k^2} dk$$

Calculons simplement ϵ' . On écrit

$$\frac{\kappa k^2}{1+s^2\omega^2 k^2} = \frac{\kappa}{s^2\omega^2} \cdot \frac{s^2\omega^2 k^2}{1+s^2\omega^2 k^2} = \frac{\kappa}{s^2\omega^2} \left(1 - \frac{1}{1+s^2\omega^2 k^2} \right)$$

D'où:

$$\varepsilon' = \frac{\kappa}{s^2\omega^2} \left[\frac{N}{2} - \int_0^{N/2} \frac{dk}{1+s^2\omega^2 k^2} \right] = \frac{\kappa}{s^2\omega^2} \left[\frac{N}{2} - \frac{1}{\omega s} \int_0^{\frac{\omega s N}{2}} \frac{dj}{1+j^2} \right]$$

avec $j = \omega s k$

$$\varepsilon' = \frac{\kappa}{s^2\omega^2} \left[\frac{N}{2} - \frac{1}{\omega s} \operatorname{Arctg} \frac{\omega s N}{2} \right]$$

Cette formule donne un palier en fonction de la fréquence aux très basses fréquences, ce qui est normal, puis il y a une décroissance quand ω augmente qui est en $1/\omega^2$ lorsque ω est assez élevé.

Cette généralisation à N puits est approchée. L'essentiel est la multiplicité des temps de relaxation; certains peuvent être très importants et même en basse fréquence, ε' doit varier avec ω .

Rappelons qu'en associant le même "poids" à des temps de relaxation de la forme $2k\tau$ on trouverait:

$$\varepsilon' = \int_0^{N/2} \frac{\kappa dk}{1+s^2\omega^2 k^2} = \frac{\kappa}{\omega s} \operatorname{Arctg} \frac{\omega s N}{2}$$

ce qui est, en dehors des très basses fréquences, sensiblement une loi en $\frac{1}{\omega}$.

V. ACTION DES AGENTS DENATURANTS

On sait que, mise à part la dénaturation thermique, on peut dénaturer les solutions d'ADN à l'aide de certaines substances chimiques que l'on a appelées "agents dénaturants".

Parmi les plus importants et dont l'action a été la plus étudiée, on peut citer, la désoxyribonucléase (qui est un enzyme), la formamide et l'urée.

Nous nous sommes proposés de faire les mêmes essais que précédemment pour les solutions salines en dissolvant l'ADN dans la formamide pure et dans l'urée 8 M.

1) Solutions d'ADN dans la formamide pure

Nous avons dissous lentement de l'ADN, sous forme de sel de sodium, dans de la formamide pure (produit pour chromatographie M E R C K); la dissolution se fait très bien aux concentrations que nous avons employées.

Action de la température

En opérant à la fréquence fixe de 1 MHz on obtient les courbes représentées sur la figure 76. On constate que la courbe de fusion pour ϵ' n'existe plus, en fait ϵ' ne varie pratiquement pas dans la gamme de températures employée.

La courbe représentative de $\text{tg } \delta$ présente une allure différente de celle obtenue pour les solutions salines, la forme sigmoïde étant remplacée par une droite correspondant à l'effet ionique pur.

Influence de la fréquence

Sur la figure 77 on a représenté les variations de ϵ' et de $\text{tg } \delta$ avec la fréquence. Les résultats obtenus sont complexes. On constate que l'incrément diélectrique dû à l'ADN a disparu et ϵ' est même devenu plus faible pour la solution d'ADN dans la formamide que pour la formamide pure. La courbe donnant les variations de $\text{tg } \delta$ est pratiquement identique pour la formamide seule et la solution d'ADN.

Le fait que les variations de ϵ' soient représentées par un palier lors du chauffage des solutions et la disparition de l'incrément diélectrique montrent que l'ADN ne se trouve plus sous sa forme de macromolécule hautement polymérisée. C'est ce que nous avons vu pour une solution saline dénaturée complètement. Ces résultats sont parallèles à ceux obtenus par T S'O et ses coll. (71) et (72).

Ces auteurs ont montré par des études polarimétriques que la formamide dénaturait complètement l'ADN.

On calcule qu'il y a un pourcentage nul d'hélices. Mais, si la structure secondaire est brisée, par contre la structure primaire reste intacte et il est même possible de renaturer le produit.

2) Action de l'urée

Le cas de l'urée est controversé. On sait de façon générale que l'urée est un briseur de liaisons hydrogène. En conséquence la dissolution d'ADN dans l'urée conduirait à une rupture des couples de bases puriques et pyrimidiques.

Alexander et Stacey (73) et (74), ont montré que la dissolution de l'ADN dans l'urée 4M conduisait à une diminution de moitié de la masse molaire initiale, au cours d'expériences portant sur la diffusion de la lumière.

Cependant ce résultat a été mis en doute par DOTY et RICE (75) et (76), puis par TS'O et ses collaborateurs (77), qui pensent que l'urée 4M ne dénature pas l'ADN à la température ambiante.

Comportement diélectrique d'une solution dans l'urée

Nous avons dissous de l'ADN dans l'urée 8M (en provenance de Carlo Erba, Milan). A la dose de 1g/l d'urée 8M, on constate la disparition de la courbe de fusion à 1MHz comme pour la solution d'ADN dans la formamide (figure 78). Les variations de $\tan \delta$ sont sensiblement linéaires avec la température. Sur la figure (79) on voit le comportement de la solution en fonction de la fréquence. Celui-ci est encore plus complexe que celui de la solution dans la formamide, et ne peut se prêter à une interprétation simple. On constate cependant que vers un MHz la solution d'ADN possède un incrément diélectrique positif.

CONCLUSION

L'étude diélectrique des solutions d'ADN apporte, grâce à l'interprétation des résultats que nous avons obtenus, des précisions intéressantes sur la structure en solution et sur la dénaturation.

Nous avons pu montrer de façon simple comment à partir de la connaissance de ϵ' et ϵ'' à 1MHz on pouvait déterminer le nombre d'ions expulsés hors de la double hélice pendant la dénaturation thermique.

Nous avons mis aussi en évidence l'absence de courbe de fusion diélectrique pour ϵ' sur les solutions d'ADN dans la formamide et dans l'urée 8M.

En définitive on peut affirmer que l'étude diélectrique d'une solution d'ADN s'avère comme un moyen complémentaire pour étudier la dénaturation s'ajoutant aux méthodes classiques utilisant l'absorption à 2600 Å ou la polarisation rotatoire.

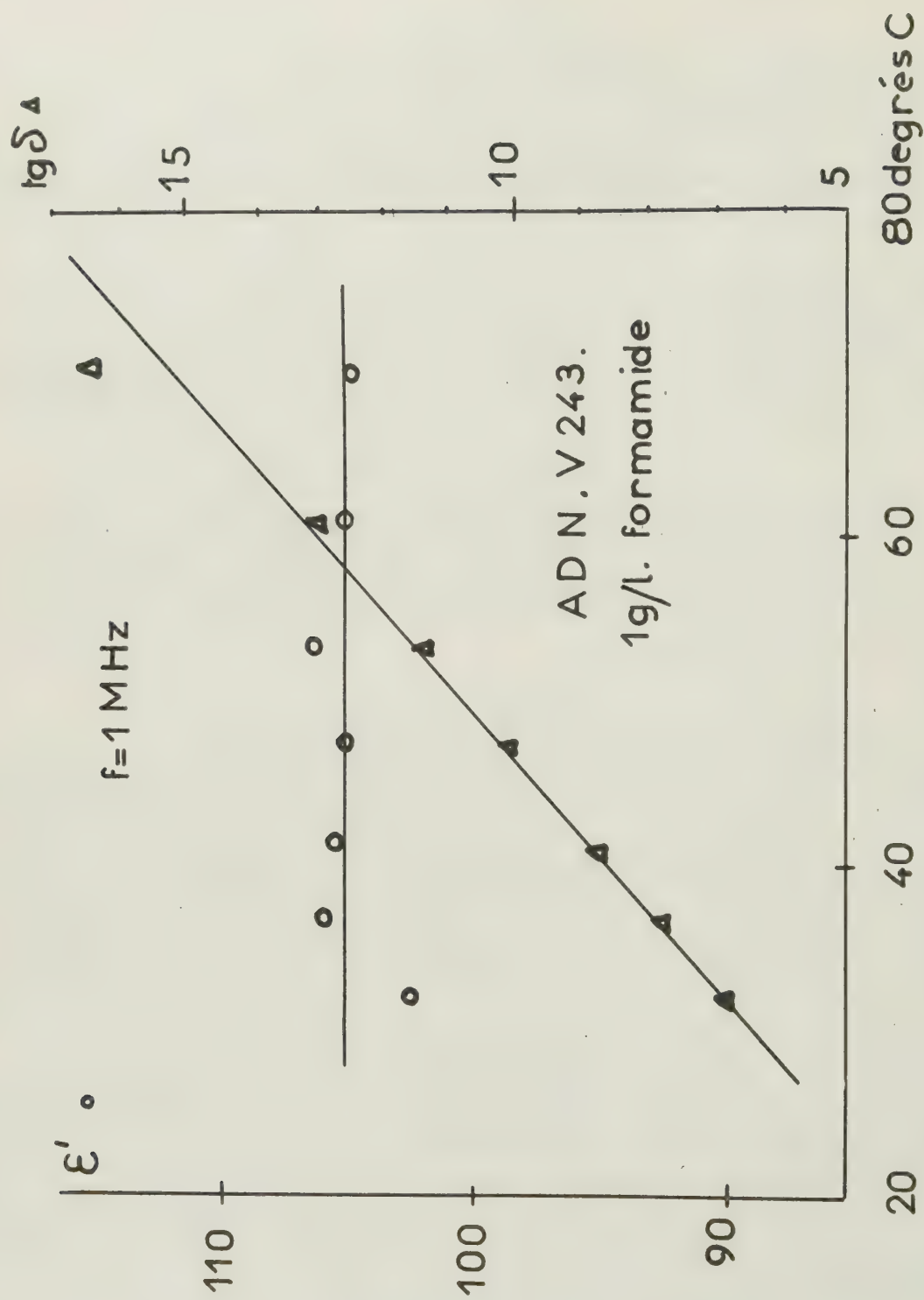


Fig.76

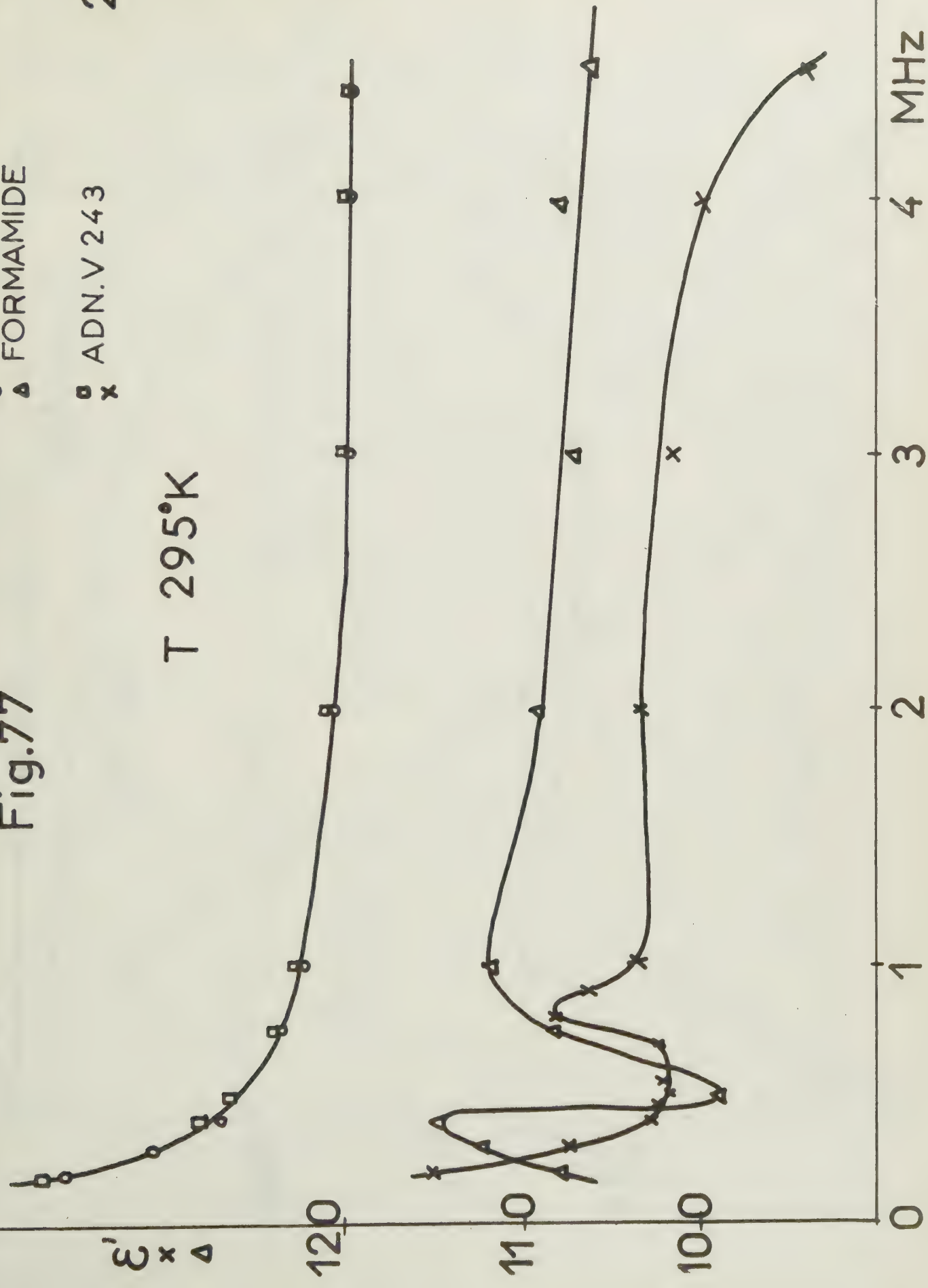
Fig.77

○ FORMAMIDE
△ ADN.V 243

□
x

20

T 295°K



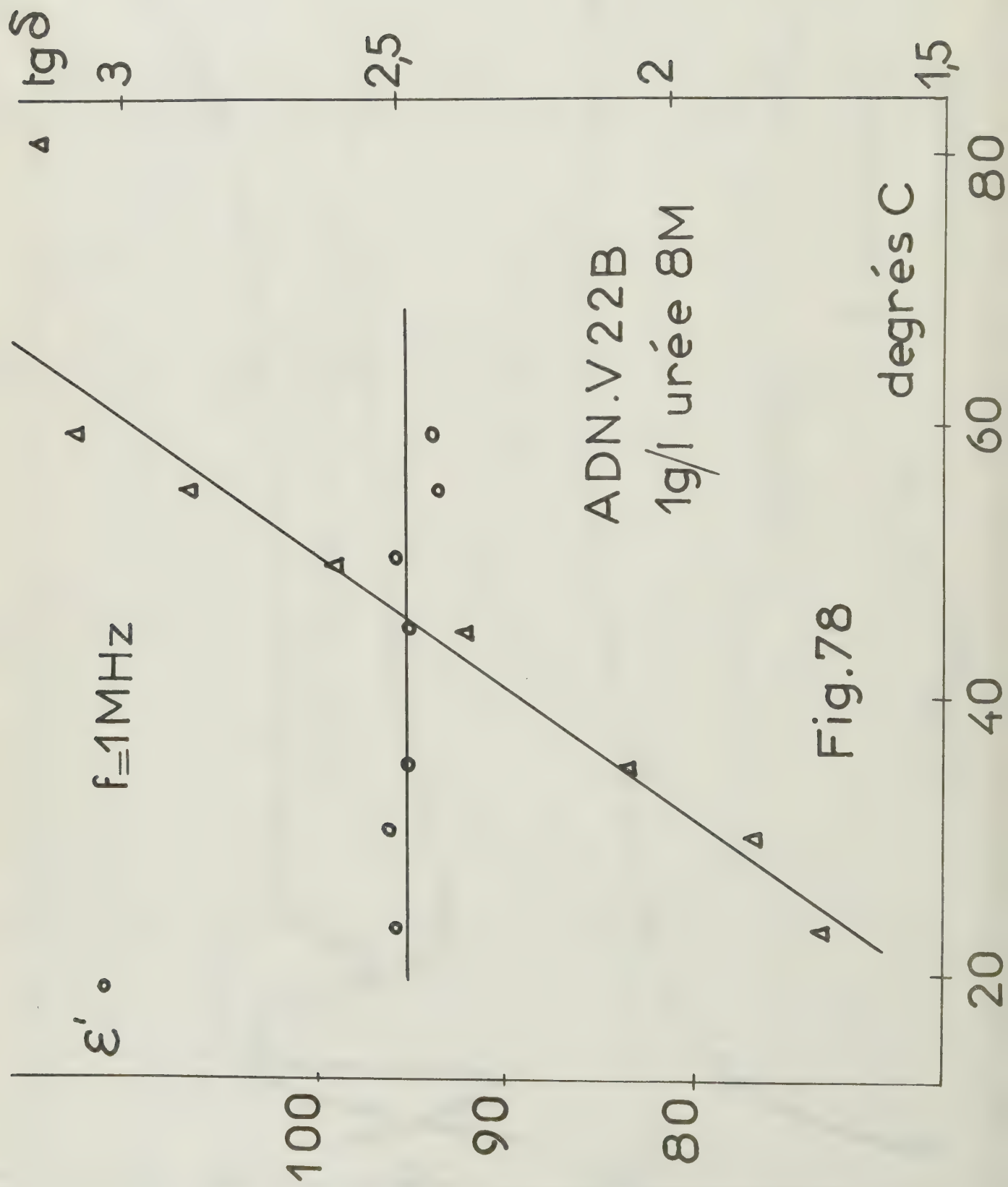
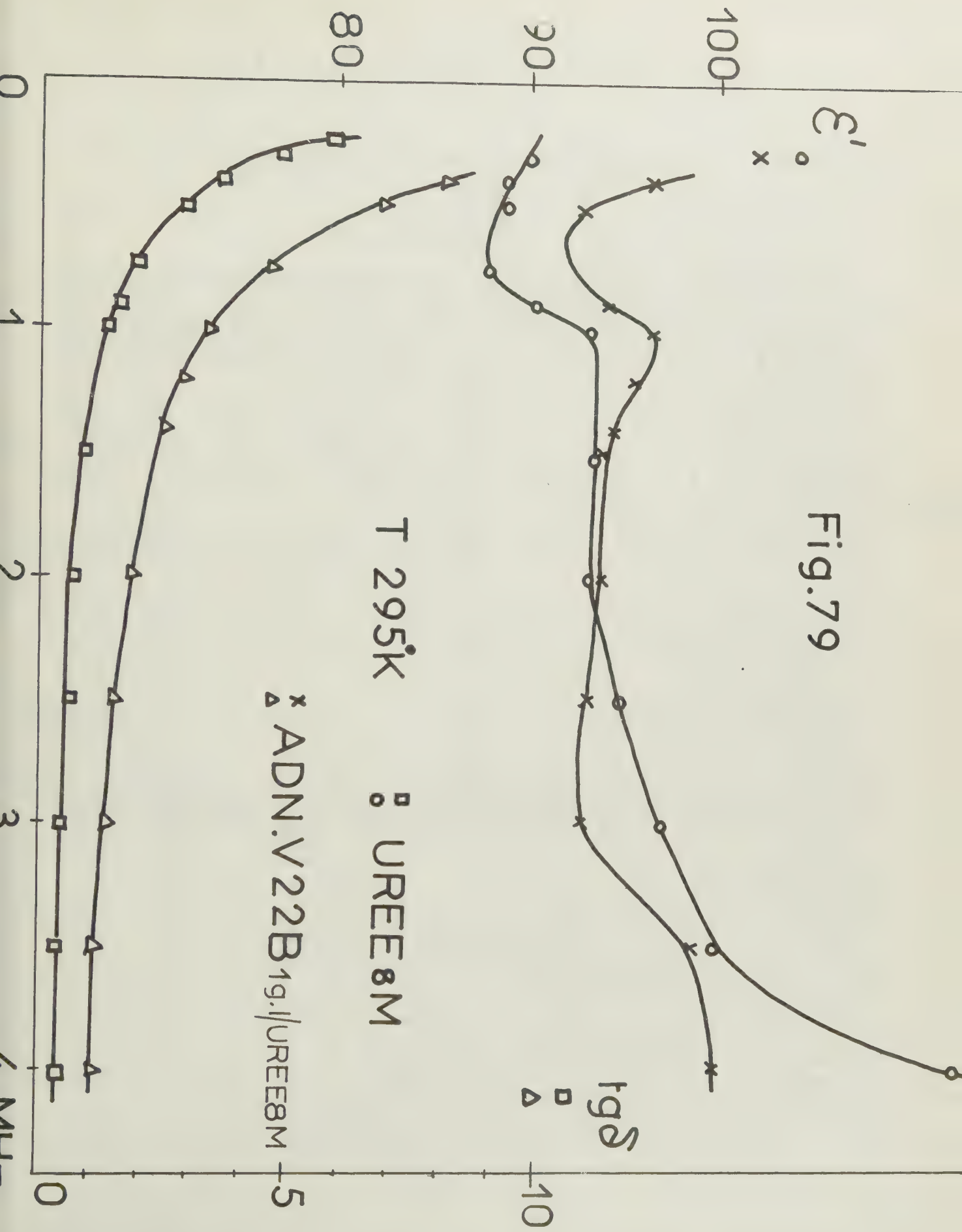


Fig.79



B - ETUDE DE L'ADN EN PHASE SOLIDE

I. IMPORTANCE DE L'HUMIDITE

L'ADN sous forme de fibres ou de film est un corps très hygroscopique. Si on enferme de l'ADN dans une enceinte close contenant de l'eau, on obtient un transfert d'eau dans l'ADN. L'eau absorbée par l'acide désoxyribonucléique a une importance considérable et se trouve à la base de l'explication d'un grand nombre de ses propriétés physicochimiques.

Au point de vue structural on sait depuis les travaux de WILKINS, que l'humidité relative qui entoure un échantillon détermine la phase structurale. Pour les sels de sodium, potassium et rubidium de l'ADN, il existe deux configurations principales (61). La forme cristalline A existe pour des humidités relatives de l'ordre de 75% au plus. La forme B paracristalline se rencontre pour des humidités relatives supérieures à 75%. Lorsque les fibres d'ADN sont soumises à une tension WILKINS a montré qu'il existait une autre configuration appelée B₂.

Dans la phase A, la stéréostructure de WATSON et CRICK se trouve déformée; les plateaux constitués par les bases puriques et pyrimidiques tournent de 20°, et le diamètre de la double hélice est plus faible que pour la forme B. On compte alors 11 nucléotides par pas d'hélice. Dans la configuration B, les plateaux des bases sont perpendiculaires à l'axe de la double hélice. Le passage de la forme A à la forme B vers 75 à 80% d'humidité relative est réversible.

De récentes études gravimétriques et spectroscopiques ont permis, de préciser le mécanisme de l'hydratation de l'ADN (78), (79) et (80). Nous reviendrons plus en détail sur ces résultats au cours de ce chapitre.

Afin de pouvoir observer un éventuel phénomène de nature électrique nous avons entrepris une étude diélectrique systématique portant sur divers échantillons d'ADN sous forme de fibres, en fonction de l'humidité relative entourant le produit. Pour cela nous avons construit au laboratoire un humidistat capable de produire une humidité contrôlée et réglable.

II. HYGROSTAT (+)

1) Principe de l'appareil réalisé

Nous avons cherché à produire de l'air ayant une humidité contrôlée avec une bonne stabilité hygrométrique au cours du temps.

(+) Cet appareillage a été construit par M. Souquet que nous remercions ici.

HUMIDISTAT H.2

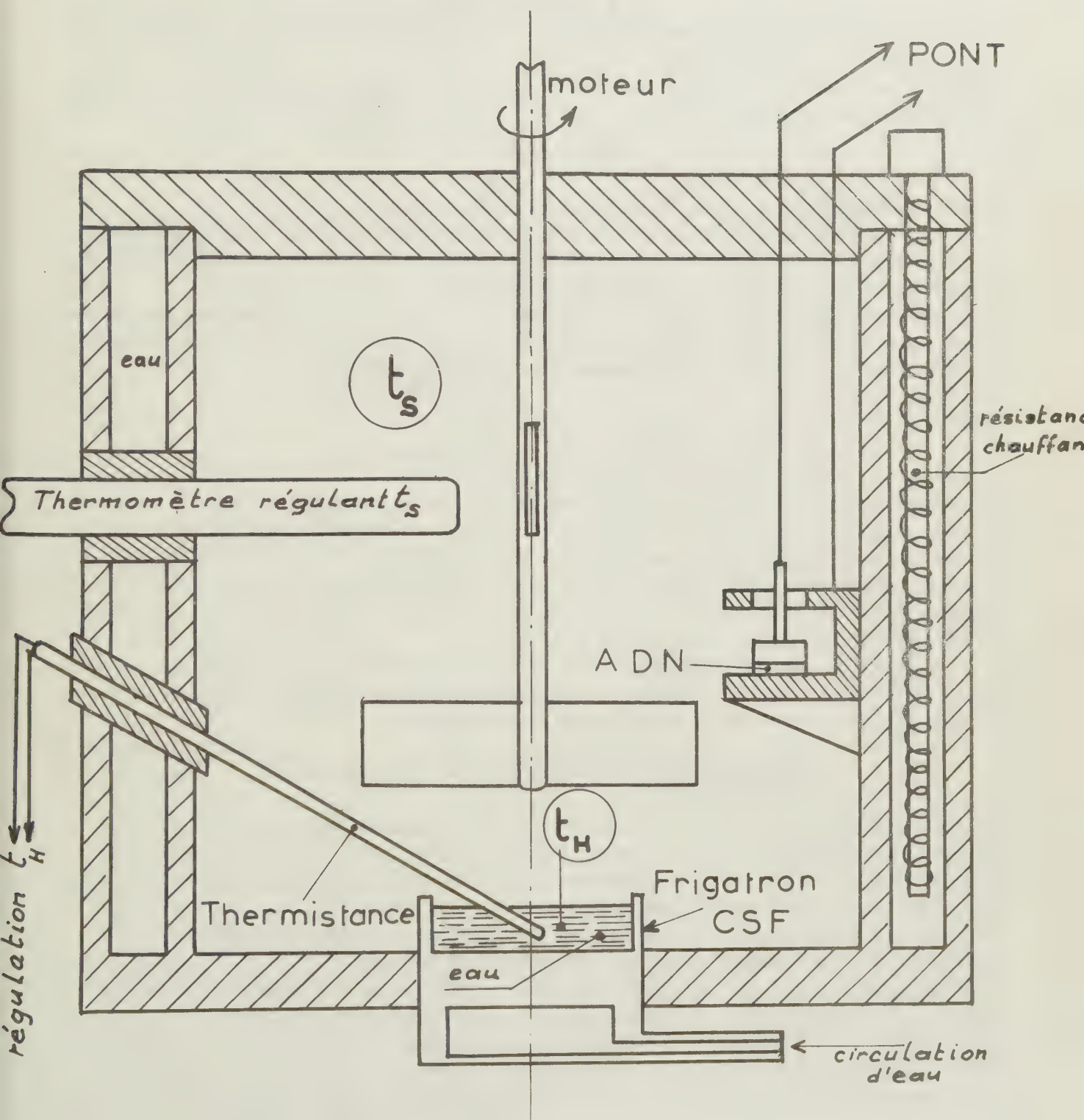


Fig.80

Dans une enceinte close sous la pression H égale à la pression atmosphérique H_0 , l'état de l'air humide est caractérisé par sa tension de vapeur d'eau f à la température t_s de l'enceinte.

Si F est la tension de vapeur saturante à la température t_s , l'humidité relative est définie par le rapport :

$$\mathcal{H} = f/F$$

A une température donnée, $\mathcal{H}$ dépend du seul paramètre f .

En plaçant une cuve d'eau à la température $t_h < t_s$ dans l'enceinte on crée une paroi froide, et la connaissance de la température sèche t_s et de la température humide t_h détermine la valeur de f .

Il existe des diagrammes de l'air humide qui donnent $\mathcal{H}$ pour chaque couple de valeurs de t_s et t_h (voir par exemple : A. Mondiez, Cours de Physique Industrielle, Gauthier Villars 1955, tome III, page 505).

2) Réalisation pratique (voir figure 80)

L'échantillon est contenu dans une enceinte en plexiglass thermostatée. La température de l'enceinte est la température sèche t_s .

Sur le fond de l'enceinte un groupe Peltier supportant une cuve remplie d'eau, forme la paroi froide à la température humide t_h .

L'enceinte est entourée d'une gaine d'eau formant tampon thermique et t_s est réglée à l'aide d'un thermomètre à contact qui par l'intermédiaire d'un relais commande le chauffage (figure 81 a).

Afin que la température et l'état hygrométrique de l'air soient uniformes, on brasse celui-ci à l'aide d'un ventilateur entraîné par un moteur dont la vitesse de rotation est de 40 tours par minute.

- Régulation de la source froide (figure 81 b)

La température t_h de l'eau contenue dans le réservoir solidaire du groupe Peltier est contrôlée par une thermistance. Pour $t_h < 15^\circ\text{C}$ c'est le groupe Peltier qui refroidit l'eau du réservoir. Si l'on doit réaliser une température $t_h > 15^\circ\text{C}$, on réchauffe l'eau à l'aide d'un petit four. La régulation de t_h s'effectue de la manière suivante. La thermistance constitue l'une des branches d'un pont de Wheatstone alimenté par un courant pulsé. Le signal de déséquilibre du pont est amplifié par un amplificateur à transistors dont la sortie communique avec un relais R. Le relais R commande l'alimentation du groupe Peltier (A P) ou le chauffage de la résistance contenue dans le réservoir. Pour fixer la température t_h on a étalonné le potentiomètre de précision P directement en degrés centigrades. La régulation du relais est faite à 2/10 de degré près en travaillant au seuil de sensibilité du relais et non à l'équilibre du pont.

Figure 81(a)

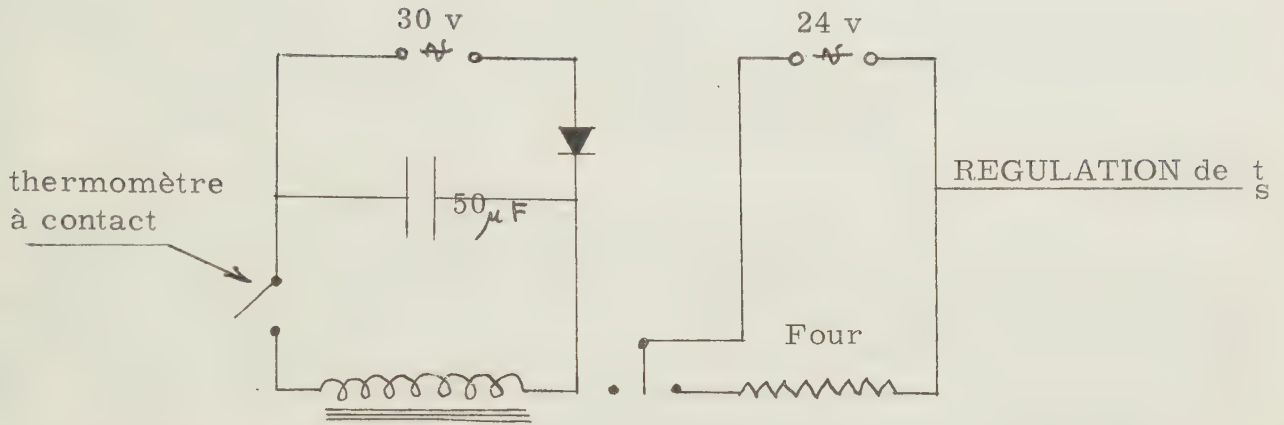
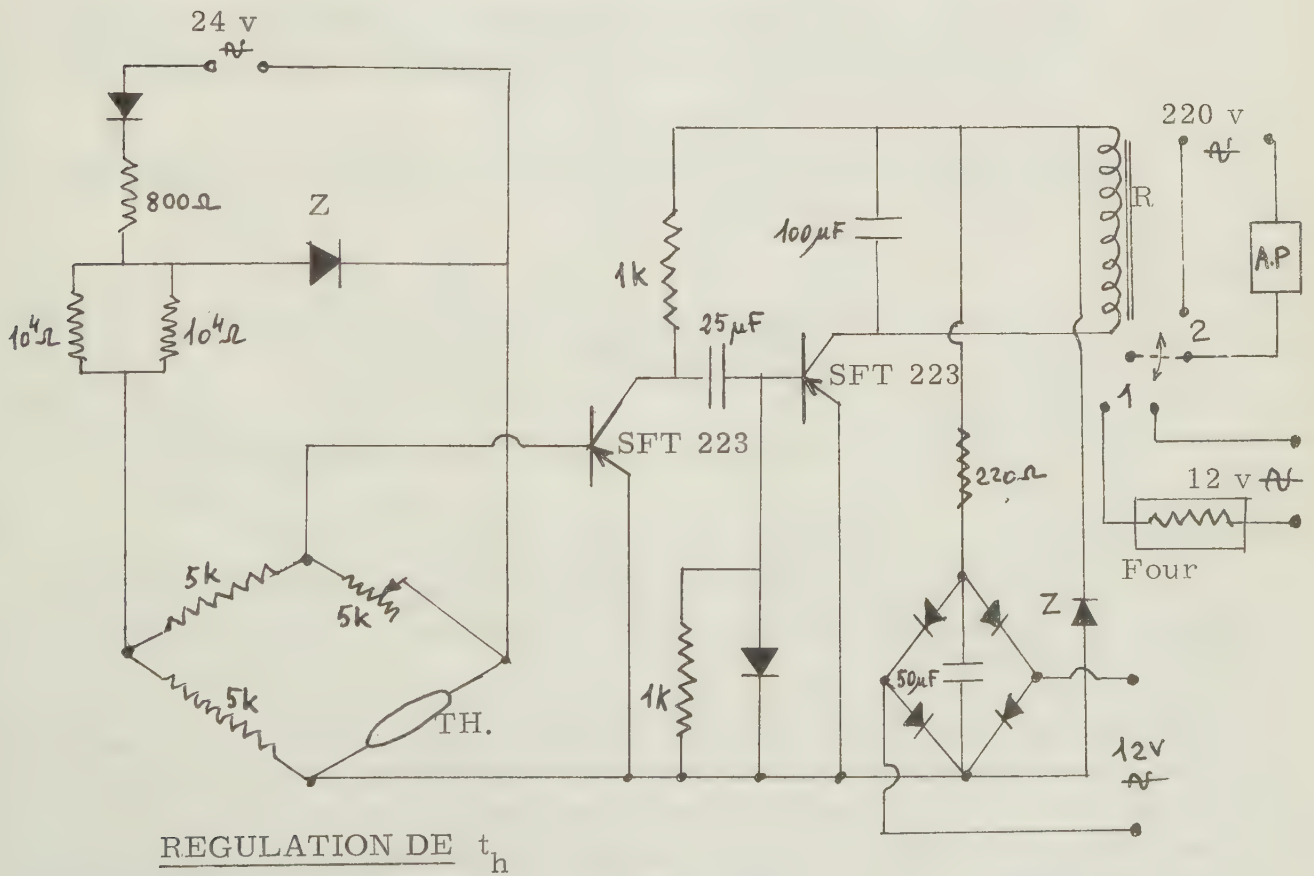


Figure 81(b)



III. DISPOSITIF EXPERIMENTAL DE MESURES

L'échantillon est constitué par une pastille d'ADN de forme cylindrique de diamètre 12 mm et de 6 à 7 /10 de mm d'épaisseur. On constitue un condensateur plan en l'insérant entre deux plateaux plans en acier inoxydable. La cellule est disposée dans l'enceinte de l'humidistat.

Mesures B. F.

Nous avons utilisé le pont General Radio type 1608 A qui assure des mesures au 1/10 de picofarad avec une sensibilité de 1/100 de p F. En adoptant un amplificateur BF sélectif à la sortie détection du pont, nous avons effectué des mesures très précises entre 180 Hz et 14 KHz. Lorsque les capacités mesurées sont assez faibles par rapport à la capacité des câbles de connexion il faut faire des corrections qui sont très simples.

Soient :

C_p^v et $\text{tg } \delta^v$ la capacité parallèle et la tangente de l'angle de pertes de l'échantillon,

C_p^p la capacité parallèle des câbles de connexion et de la cellule de mesures dont les plateaux sont écartés de la même épaisseur que l'échantillon,

C_p^m et $\text{tg } \delta^m$ la capacité parallèle et la tangente de l'angle de pertes mesurées au pont.

On a :

$$C_p^v = C_p^m - C_p^p$$

$$\text{tg } \delta^v = \text{tg } \delta^m (1 + C_p^v / C_p^p)$$

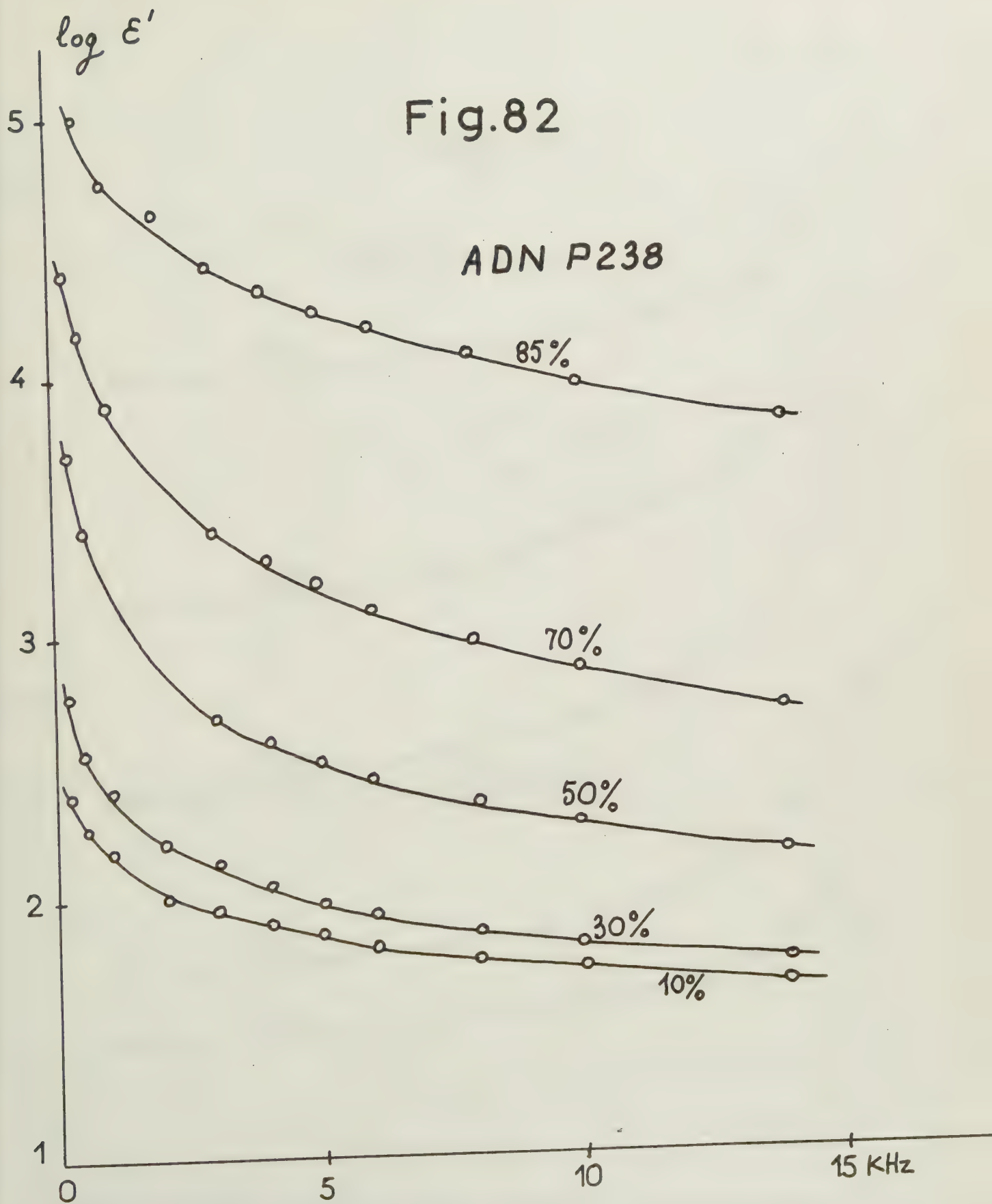
Aux fréquences utilisées les corrections de self sont négligeables.

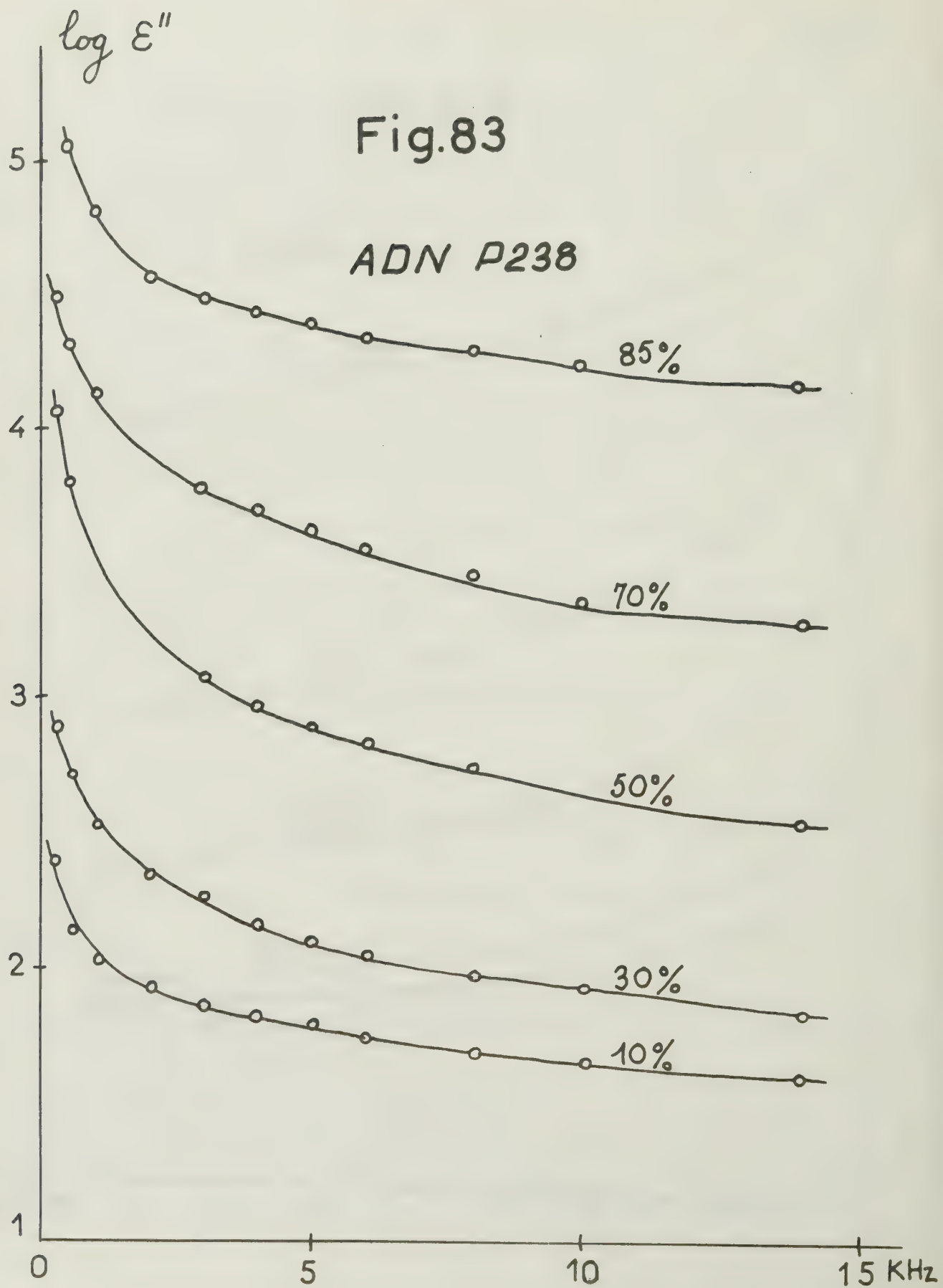
Mesures H. F.

Nous avons effectué ces mesures avec le pont General Radio 916 AL. La technique de mesure et les corrections ont déjà été signalées lors de l'étude des solutions.

Les pastilles d'ADN sont été préparées à partir du sel de sodium de l'ADN sous forme de fibres. Les produits sont les mêmes que ceux qui ont été employés pour notre étude en solution; c'est à dire qu'ils contiennent des ions Cl^- libres. Les fibres finement dilacérées sont comprimées à 200 Kg/cm² dans une matrice cylindrique. Nous avons expérimenté sur des échantillons provenant de deux sources différentes. Ceux provenant des érythrocytes de poulet ont été notés P 238 et ceux extraits de thymus de veau V 243.

Fig.82





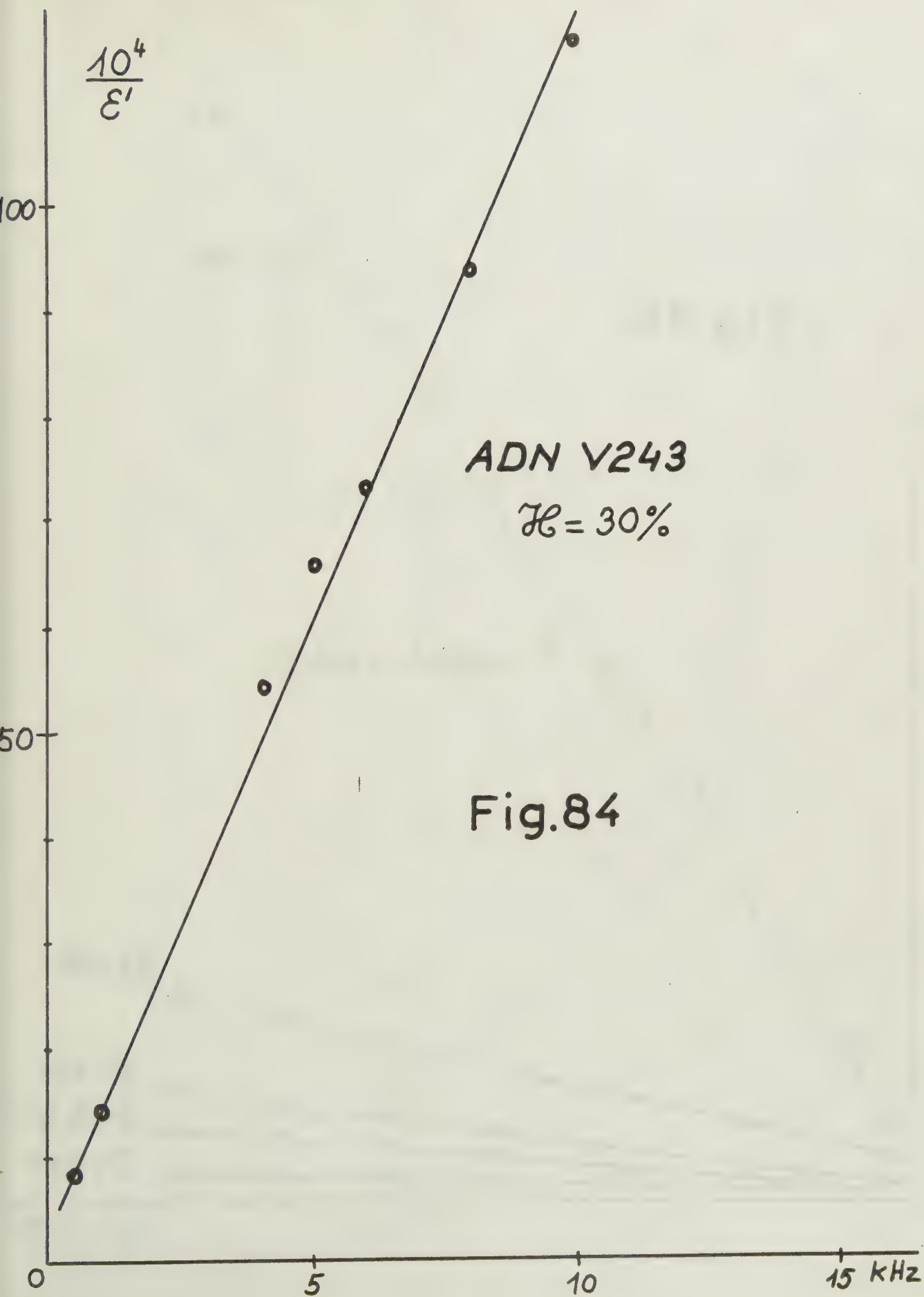
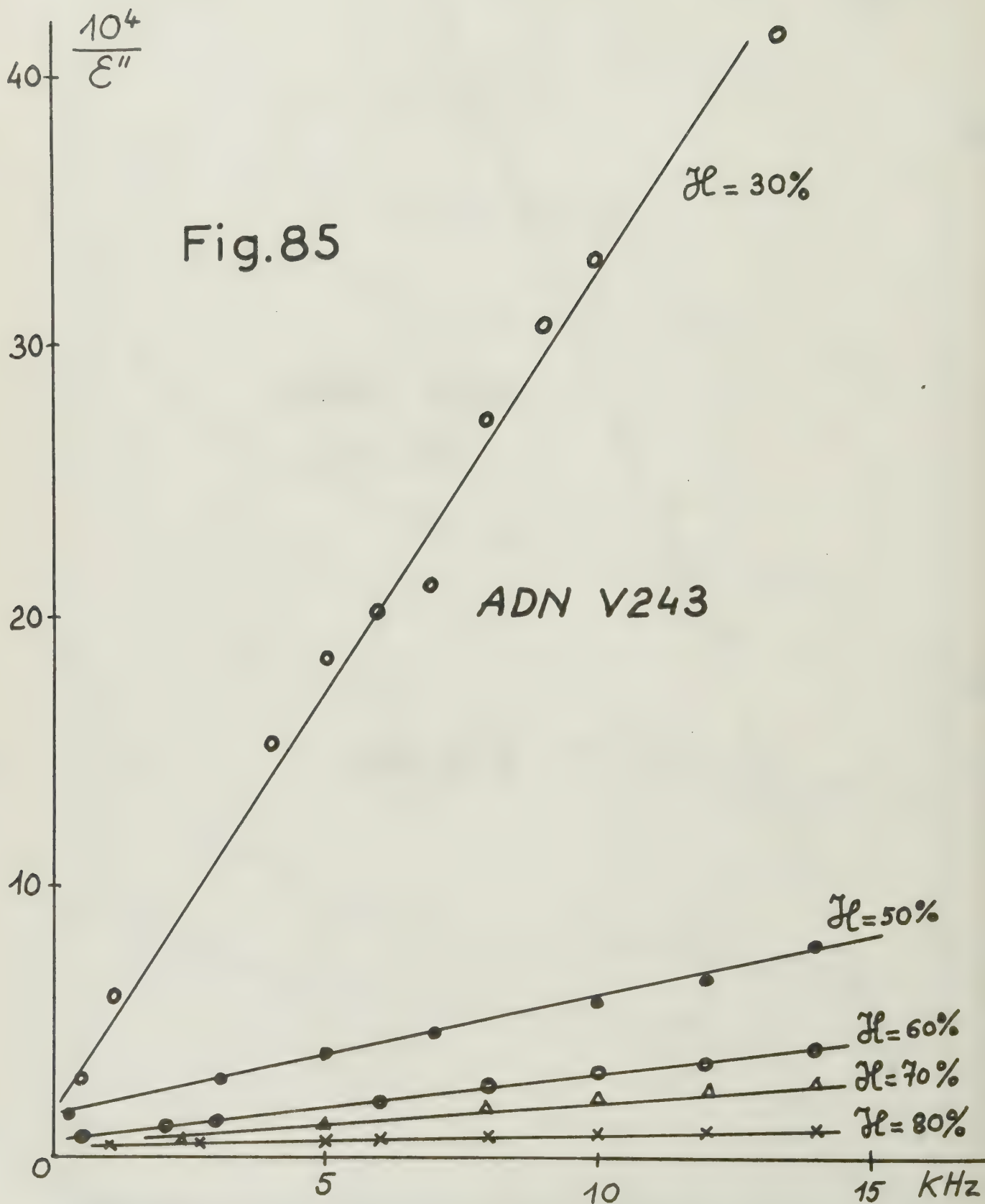
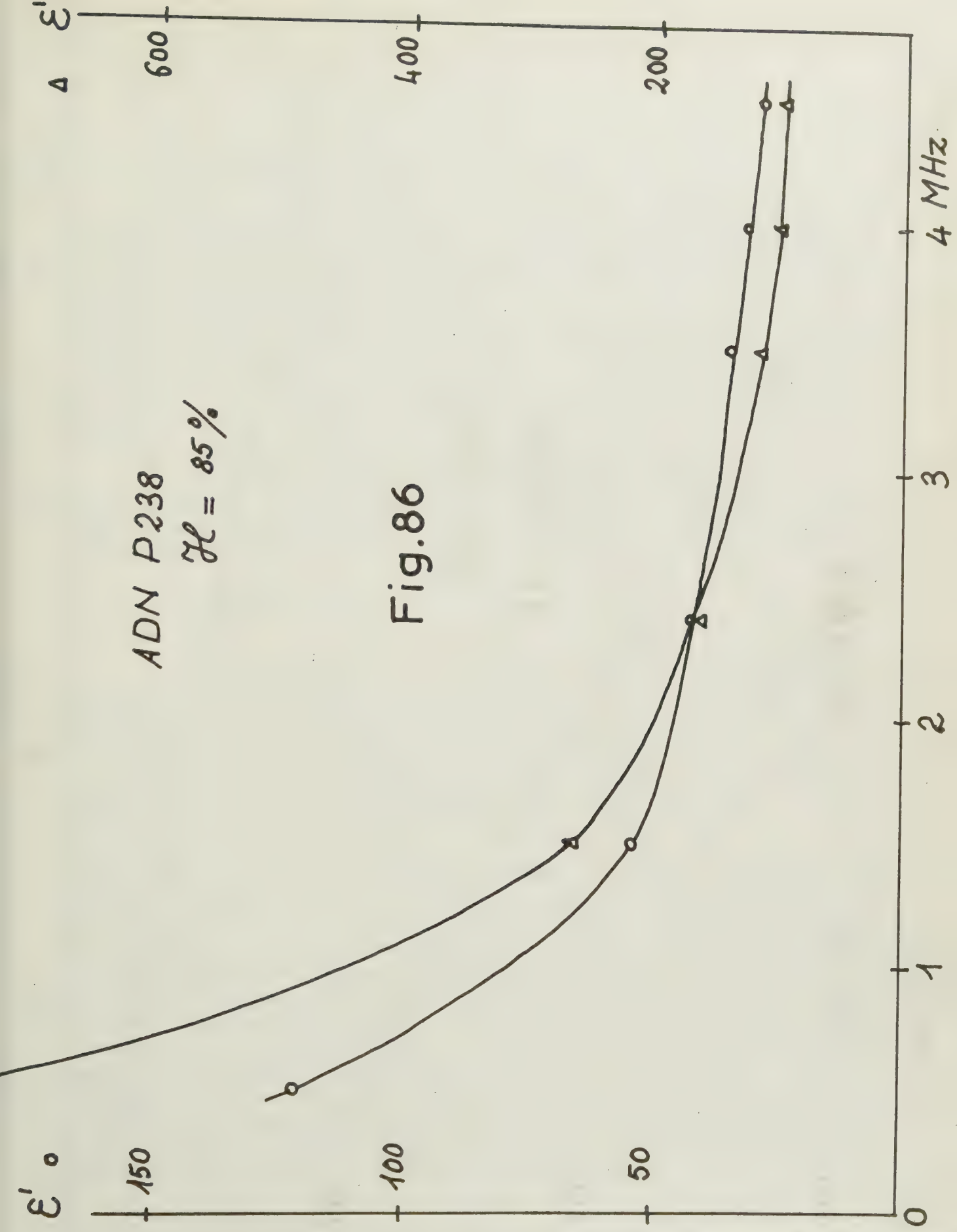
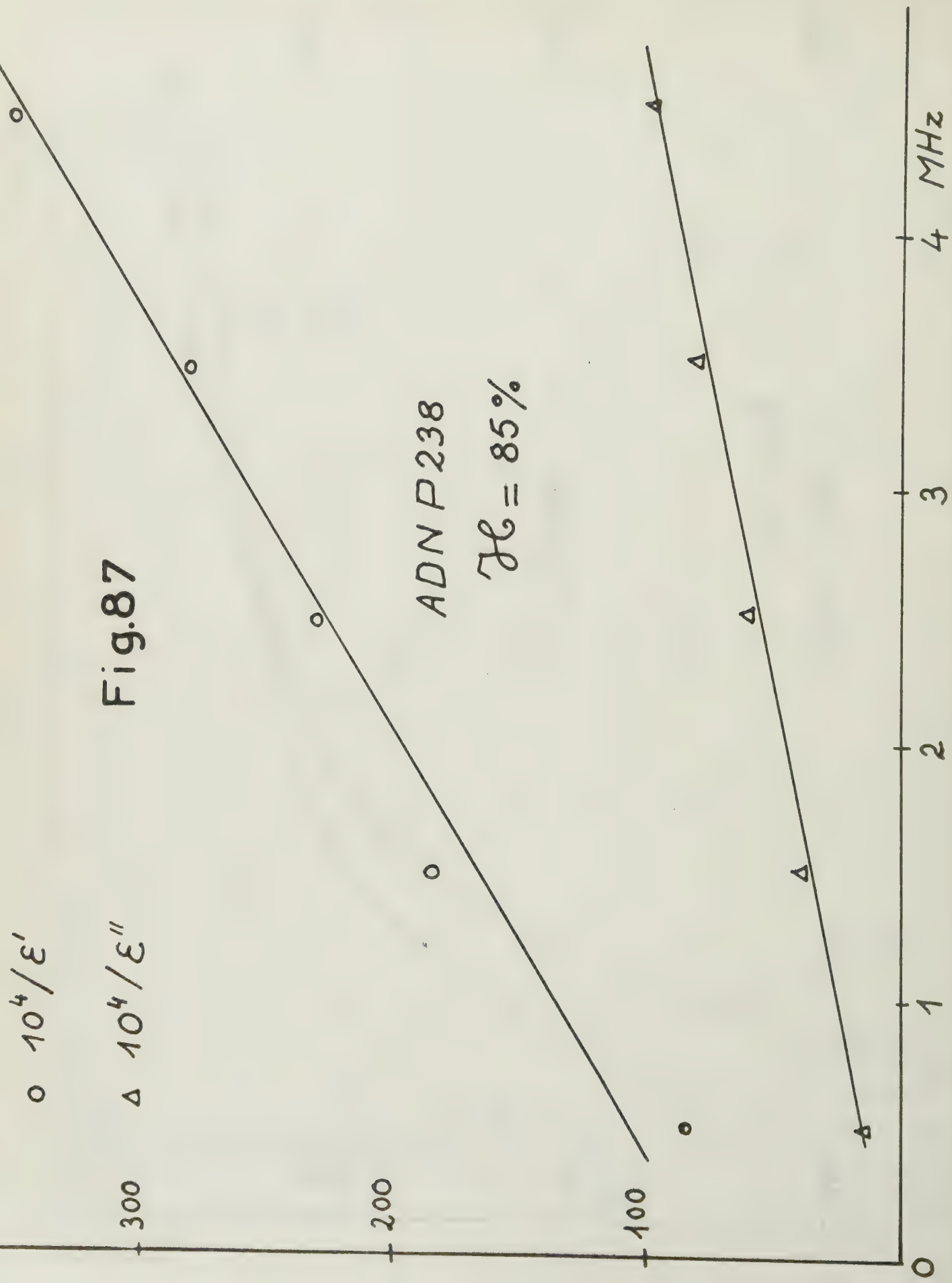


Fig.84







IV. RESULTATS

Les mesures ont été faites en partant d'une humidité relative faible dont nous augmentions progressivement la valeur. Il fallait environ deux à trois jours pour atteindre un état d'équilibre hygrométrique pour $10 < \mathcal{H} < 20\%$. On considère que l'équilibre est atteint lorsque les caractéristiques diélectriques du produit ne subissent plus d'évolution.

On a fait croître $\mathcal{H}$ de 20% en 20% avec des intervalles de temps, nécessaires pour atteindre l'équilibre, de l'ordre de 1,5 à 2 jours. Pour chaque valeur de $\mathcal{H}$ constante nous avons mesuré ϵ' et ϵ'' à diverses fréquences f .

De l'ensemble de nos mesures nous avons déduit deux réseaux principaux de courbes:

- les réseaux d'isohydes pour $\mathcal{H}$ constante et f variable
- les réseaux d'isochrones avec f constant et $\mathcal{H}$ variable.

Les valeurs de ϵ' et ϵ'' sont des valeurs apparentes faisant intervenir notamment l'effet Maxwell - Wagner; nous analyserons ce phénomène plus loin.

L'échantillon était maintenu à température constante ($t_s = 30^\circ \text{C} \pm 0,1$).

1) Réseaux isohydes

Sur les figures 82 et 83, nous avons représenté les variations de $\log \epsilon'$ et de $\log \epsilon''$ en fonction de la fréquence de mesure. Les diverses valeurs de $\mathcal{H}$ sont exprimées en %. Ces courbes sont relatives à l'échantillon P 238; elles sont très analogues à celles que nous avons obtenues pour l'ADN V 243, mais les valeurs absolues de ϵ' et de ϵ'' diffèrent car elles dépendent très étroitement du nombre d'ions libres dans le solide (nous avons déjà mentionné ce fait dans l'étude diélectrique des solutions d'ADN).

On constate que les valeurs de ϵ' et de ϵ'' sont considérables dès que $\mathcal{H}$ devient important.

La croissance de ϵ' et de ϵ'' lorsque la fréquence décroît est caractéristique des phénomènes ioniques entrant en jeu qui sont prépondérants en basse fréquence. On peut mieux se rendre compte des lois de variation de ϵ' et de ϵ'' en fonction de la fréquence f , en représentant $1/\epsilon'$ et $1/\epsilon''$ en fonction de f . Les figures 84 et 85 montrent que l'on obtient des droites. Des écarts avec cette loi linéaire peuvent avoir lieu vers les très basses fréquences ($f < 1\text{KHz}$).

Pour les fréquences plus élevées nous n'avons pu déterminer les variations de

ϵ' et de ϵ'' que pour les valeurs de $\mathcal{H}$ très élevées (sinon les mesures au pont HF sont impossibles à cause des valeurs des conductances rencontrées).

La figure 86 montre les variations de ϵ' et de ϵ'' entre 500 KHz et 5 MHz, avec $\mathcal{H} = 85\%$. ϵ' et ϵ'' ont baissé considérablement par rapport à leurs valeurs en basse fréquence. La loi de proportionnalité à f pour $1/\epsilon''$ est sensiblement conservée comme on peut le constater d'après la figure 87.

Cette figure indique pour $1/\varepsilon'$, une variation assez linéaire en fonction de f , mais on n'a plus une droite passant par l'origine comme en BF: les mécanismes BF et HF sont distincts.

2) Réseaux isochrones

Nous avons observé un phénomène très intéressant en traçant les réseaux correspondant à $\log \varepsilon'$ et $\log \varepsilon''$ en fonction de l'humidité relative $\mathcal{H}$, avec la fréquence f comme paramètre.

Les figures 88 et 89 montrent les réseaux relatifs à l'échantillon V 243. Les mêmes résultats ont été obtenus avec l'ADN P 238.

Les courbes en traits pleins représentent l'évolution de $\log \varepsilon'$ ou de $\log \varepsilon''$ lorsqu'on fait croître $\mathcal{H}$. Les courbes en traits pointillés montrent le retour vers les basses valeurs de $\mathcal{H}$ (séchage du produit).

On constate sur chaque courbe que la variation n'est pas régulière en fonction de $\mathcal{H}$; le réseau présente une déformation marquée correspondant à environ $\mathcal{H} = 75\%$ (courbes en traits pleins). Au séchage on obtient une forte hystérésis.

Les phénomènes observés peuvent être reliés aux transitions structurales connues chez l'ADN. Nos résultats peuvent être rapprochés de l'analyse récente de l'évolution structurale due à FALK et ses collaborateurs. (78), (79) et (80)

Nous allons rappeler brièvement ce comportement.

Hydratation de l'ADN

FALK et ses collaborateurs ont précisé à l'aide de diverses expériences le processus d'hydratation de l'ADN.

Par des études gravimétriques effectuées sur le sel de sodium de l'ADN exempt d'ions Cl^- , on peut calculer le nombre de molécules d'eau absorbées par mole de nucléotide, en fonction de l'humidité relative (78).

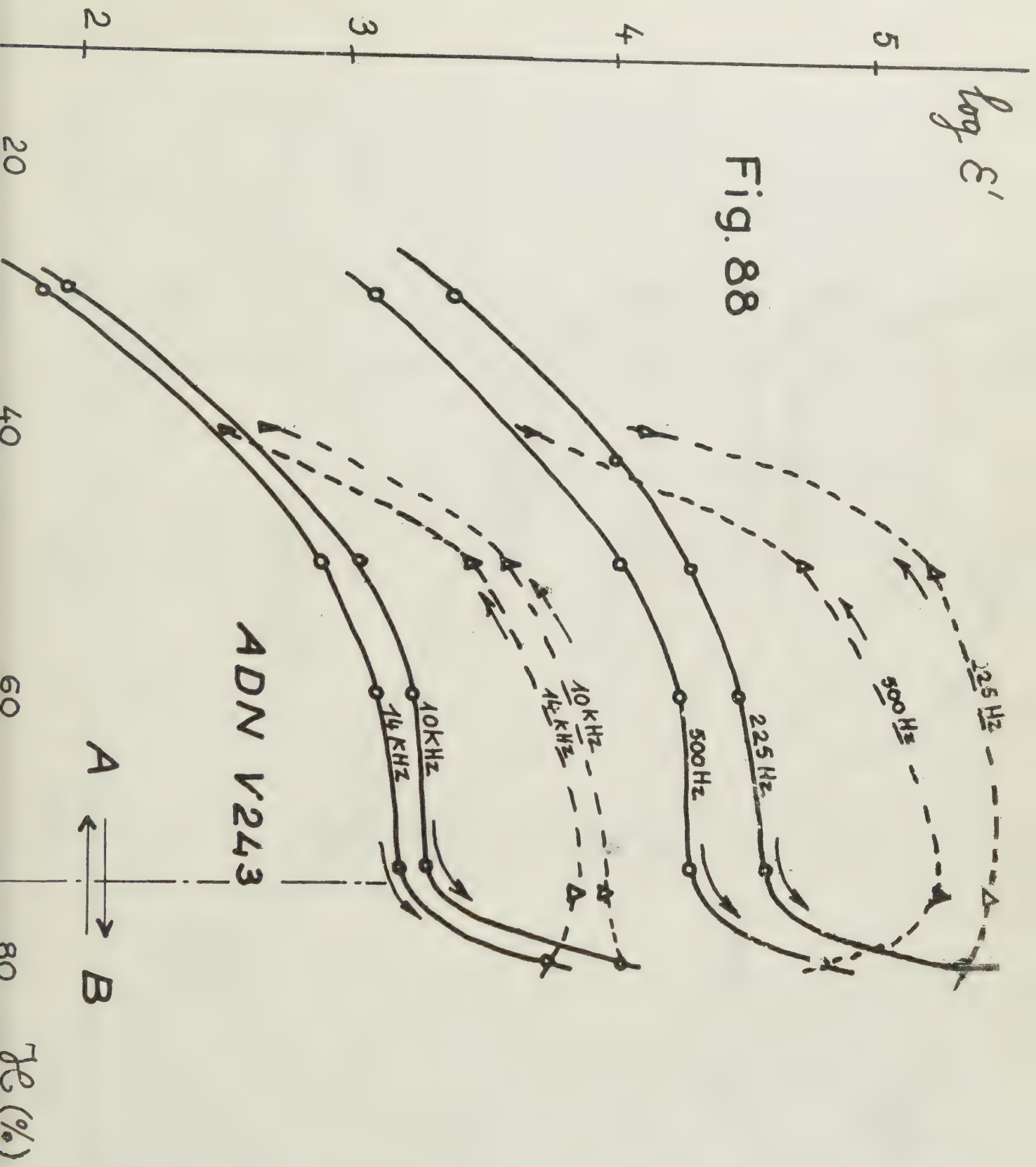
D'autre part il apparaît que :

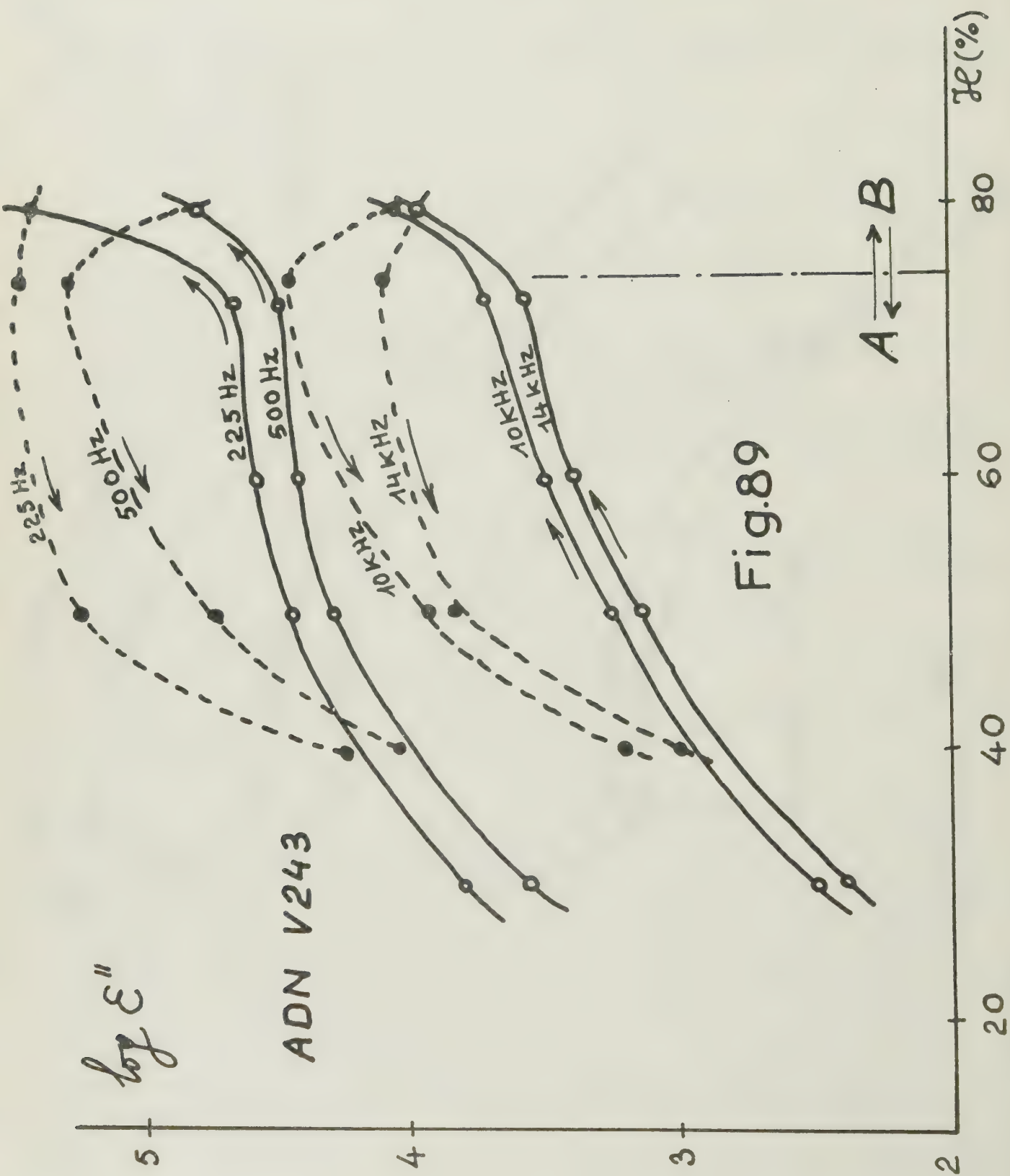
- Les oxygènes des groupements carbonyles et sucres et les atomes d'azote des bases hétérocycliques, ont une faible affinité pour l'eau et jouent un rôle secondaire dans l'hydratation de la macromolécule.

- Les sites ionisés des phosphates, au contraire, ont une grande affinité pour l'eau. Ce sont les sites primaires de l'hydratation de l'ADN. A l'aide d'études spectroscopiques (dichroïsmes infra-rouge et ultra-violet), ces auteurs ont déterminé ensuite les diverses phases de l'hydratation en fonction de l'humidité relative (79) et (80).

- Pour $0 < \mathcal{H} < 60-65\%$, l'eau est adsorbée sur les groupements $\text{PO}_2^- \text{Na}^+$ (sites primaires, voir figure 73).

- Les oxygènes compris entre P et C (P-O-C) et C et C (C-O-C) commencent à s'hydrater vers $\mathcal{H} \simeq 65\%$ (sites secondaires et tertiaires).





- Les groupements C = O et les azotes des hétérocycles commencent à s'hydrater pour $\mathcal{H} \approx 65\%$ (sites quaternaires).

- Si $\mathcal{H} = 80\%$ tous les sites disponibles sont utilisés, et les conditions optima de stabilisation de la double hélice sont réalisées.

- Pour $\mathcal{H} = 92\%$ les hélices sont hydratées avec environ 20 H₂ O par nucléotide.

Enfin en mesurant l'absorption optique à 2600 Å en fonction de $\mathcal{H}$ on obtient une sigmoïde ressemblant aux courbes de fusion.

Le point d'inflexion de la courbe correspond à $\mathcal{H} \approx 65\%$, ce qui correspondrait au passage d'une structure désordonnée aux structures A puis B.

Ce désordre dans la structure est confirmé par les expériences portant sur la diffraction des rayons X qui ne donnent pas l'image d'une structure ordonnée en-dessous de $\mathcal{H} = 55\%$ (81).

Au point de vue diélectrique il semble donc que le passage de la structure A à la structure B soit nettement marqué. Remarquons que l'inclusion des molécules d'eau dans le solide ne cesse que lorsque $\mathcal{H} = 80\%$ (tous les sites disponibles étant hydratés).

L'hystérésis rencontrée lors du séchage tend à prouver que le départ des molécules d'eau est difficile à obtenir en atmosphère humide.

V. INTERPRETATION DES RESULTATS

1) Variation de ϵ''

La variation de ϵ'' en fonction de la fréquence, caractérisée par une loi de la forme $\frac{1}{\epsilon''} = K \cdot f$, peut s'interpréter par la conduction ionique.

Celle-ci paraît bien être le phénomène prépondérant pour les taux d'humidité envisagés. L'augmentation de cette conduction lorsque l'humidité s'accroît est normale, car les ions deviennent plus nombreux et plus mobiles en présence du milieu ionisant qu'est l'eau.

2) Variation de ϵ'

A priori divers mécanismes sont possibles pour expliquer les variations de ϵ' et ils interviennent plus ou moins. Eu égard aux valeurs de ϵ' très élevées obtenues, il paraît logique de faire intervenir l'effet Maxwell-Wagner. Effectivement si l'on considère plus particulièrement le cas des pourcentages élevés d'eau, il ne fait pas de doute que l'on peut faire intervenir une hétérogénéité à une échelle supermicroscopique, et introduire pour l'interprétation des couches successives de caractère différent.

Ainsi O' KONSKI et ses collaborateurs (82), ont montré sur le sel de sodium exempt d'ions Cl⁻ libres et pour $\mathcal{H} = 93\%$, qu'il existait une relaxation du type Debye apparente due à la polarisation des électrodes.

L'effet Maxwell-Wagner pourrait alors, accompagnant l'évolution structurale, expliquer pour une part, l'augmentation rapide de ϵ' au delà de 75% d'humidité relative. Au-dessous de cette valeur il ne paraît pas nécessaire de lui donner une importance prépondérante.

Si l'on adopte en effet, un modèle classique plus ou moins perfectionné de la théorie de Maxwell-Wagner, avec double couche ou couches multiples d'éléments purement diélectriques et conducteurs, on obtient assez systématiquement une relaxation diélectrique se ramenant au type de Debye simple.

Or le comportement diélectrique du solide se caractérise essentiellement aux basses fréquences (très basses fréquences, naturellement exclues) par la proportionnalité de $1/\epsilon'$ et f . Nous pensons que le comportement du solide humide s'apparente très étroitement à celui de la solution, et qu'il faut faire intervenir comme contribution essentielle à la polarisation, celle qui provient de la présence d'ions plus ou moins libres.

Le mouvement de ces ions le long de la macromolécule est susceptible, nous l'avons vu en prenant comme base le modèle de Mandel, de conduire à des valeurs de ϵ' très élevées. Nous avons vu aussi que le comportement en fonction de la fréquence peut être expliqué dans ce modèle, en tenant compte d'une grande dispersion des temps de relaxation correspondant aux sauts ioniques le long de la chaîne.

L'augmentation de ϵ' avec $\mathcal{H}$ s'explique alors en faisant intervenir des mobilités différentes pour ces mouvements d'ions, suivant le taux d'humidité. Comme le suggère O'KONSKI (82), on peut concevoir que l'hydratation d'un ion positif réduit notablement le champ électrique local sur un site adjacent négatif; il en résulterait un abaissement des barrières de potentiel figurant les sites négatifs, et une circulation plus facile des ions positifs.

Nous avons vu d'autre part, qu'aux fréquences élevées, la variation de ϵ' avec f devenait plus lente; on peut faire appel dans cette zone à l'autre mécanisme évoqué aussi dans l'étude en solution.

C. ETUDE DES BASES PURIQUES ET PYRIMIDIQUES

I. MESURES

Les mesures ont porté sur les bases puriques et pyrimidiques à l'état solide. On sait que ces substances sont pratiquement insolubles dans l'eau et dans les solvants organiques classiques. Les bases et les acides minéraux peuvent les dissoudre, mais l'étude en solution avec de tels solvants est sans grand intérêt, les phénomènes ioniques masquant toute contribution purement diélectrique; seule une étude effectuée dans la gamme des hyperfréquences pourrait apporter certains renseignements tels, que la valeur des moments dipolaires, (dont une étude théorique a été faite (83)).

Une étude préalable des solides effectuée en haute fréquence (500 KHz - 50 MHz), a montré que les deux constantes ϵ' et ϵ'' ne subissaient aucune évolution. Aussi, nous avons orienté les mesures vers les basses fréquences.

L'étude a été faite à l'aide du pont B F General Radio, type 1608 A, dont l'installation et l'emploi (avec les corrections à effectuer) ont été décrits précédemment. Les échantillons étaient constitués par des disques cylindriques de 12 mm de diamètre et de quelques dixièmes de mm d'épaisseur, obtenus en comprimant les poudres microcristallines sous une pression de 100 Kg/ cm²; de tels échantillons ont une porosité faible, mais non nulle.

La cellule de mesure constituée par deux plateaux en acier inoxydable, était isolée sur quartz. Elle était placée dans un tube de quartz permettant de mettre l'échantillon sous vide ou dans une atmosphère quelconque et de faire varier sa température.

II. RESULTATS

Sous vide ou dans l'air bien sec, on obtient une constante diélectrique relative faible (de l'ordre de 2 ou 3) et des pertes très réduites. Il n'y a pas de variation sensible en fonction de la fréquence et de la température. Par contre en présence d'air non exempt d'humidité, ϵ' et ϵ'' présentent des variations intéressantes que nous allons préciser.

1) Influence de la fréquence

En opérant à la température fixe de 22°C, nous avons pu observer un phénomène intéressant intervenant en basse fréquence. Dans la gamme 100 Hz- 14 KHz, l'adénine, la guanine, la cytosine, l'uracile et la purine, présentent une évolution de ϵ' et ϵ'' assez marquée. Les constantes diélectriques de la thymine par contre évoluent extrêmement peu; nous n'y reviendrons pas.

Les figures 90 a, b, c, d, e, représentent les diagrammes diélectriques que nous avons obtenus pour les variations de ϵ' et ϵ'' en fonction de la fréquence. D'une façon générale, ϵ' et ϵ'' augmentent lorsque la fréquence décroît; cette croissance est très marquée en dessous de 1 KHz.

Dans le cas de la cytosine et de l'adénine nous avons pu mettre en évidence un palier pour ϵ' au-dessous de 500 Hz. Pour les autres bases il semble que ce palier existe aussi, mais pour de très basses fréquences (inférieures à 100Hz); or en-dessous de 100 Hz, les mesures deviennent trop imprécises pour que nous ayons pu déterminer ϵ' et ϵ'' de façon correcte.

D'autre part, on peut remarquer que ϵ' et ϵ'' évoluent peu dans le cas de la cytosine et de l'adénine, et beaucoup dans le cas de la purine.

L'influence de l'humidité se manifeste donc d'abord par une augmentation générale de ϵ'' , ensuite par la croissance de ϵ' et de ϵ'' lorsque la fréquence diminue.

Cependant, nous n'avons décelé aucune polarisation des électrodes qui aurait pu introduire des phénomènes ioniques étrangers au comportement purement diélectrique que nous avons observé.

2) Influence de la température

En refroidissant à l'aide d'azote liquide nos échantillons, nous avons mis en évidence deux phénomènes principaux (voir figures 91 a, b, c, d, e, f.)

- Pour des températures inférieures à -100°C, ϵ'' est pratiquement nul dans tous les cas, ϵ' gardant une valeur constante mais inférieure à celle que l'on obtient vers la température ambiante.

- En réchauffant progressivement les échantillons depuis les basses températures, ϵ' et ϵ'' augmentent jusqu'à donner lieu à des pics qui ont leur sommet au-dessus de 0°C, vers 10 ou 15°C selon la substance envisagée. Nous avons opéré à deux fréquences fixes (1 KHz et 225 Hz); les figures 91a et 91b montrent les cas de la guanine. Pour les autres bases, nous avons représenté seulement le graphe relatif à 1 KHz, l'influence de la fréquence étant la même que dans le cas de la guanine.

En comparant les graphes relatifs aux fréquences de 1 KHz et 225 Hz, on constate que pour la fréquence la plus basse les valeurs de ϵ' et ϵ'' sont amplifiées (ce qui est en accord avec ce que nous avons observé en faisant varier la fréquence à la température ambiante). En ce qui concerne les pics de ϵ' et ϵ'' , il n'y a pas de décalage important lorsque la fréquence varie.

Fig. 90a

ADENINE

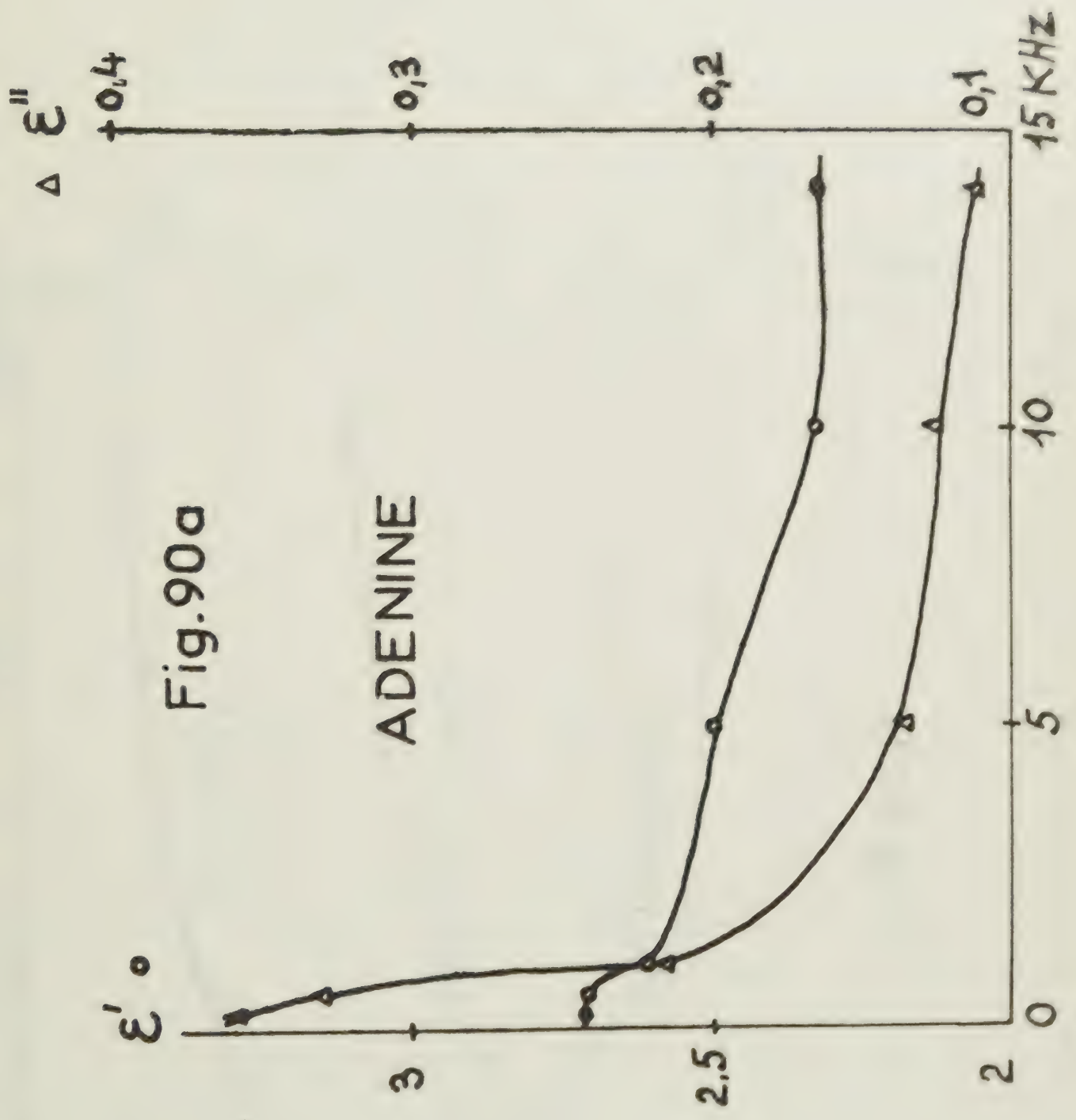
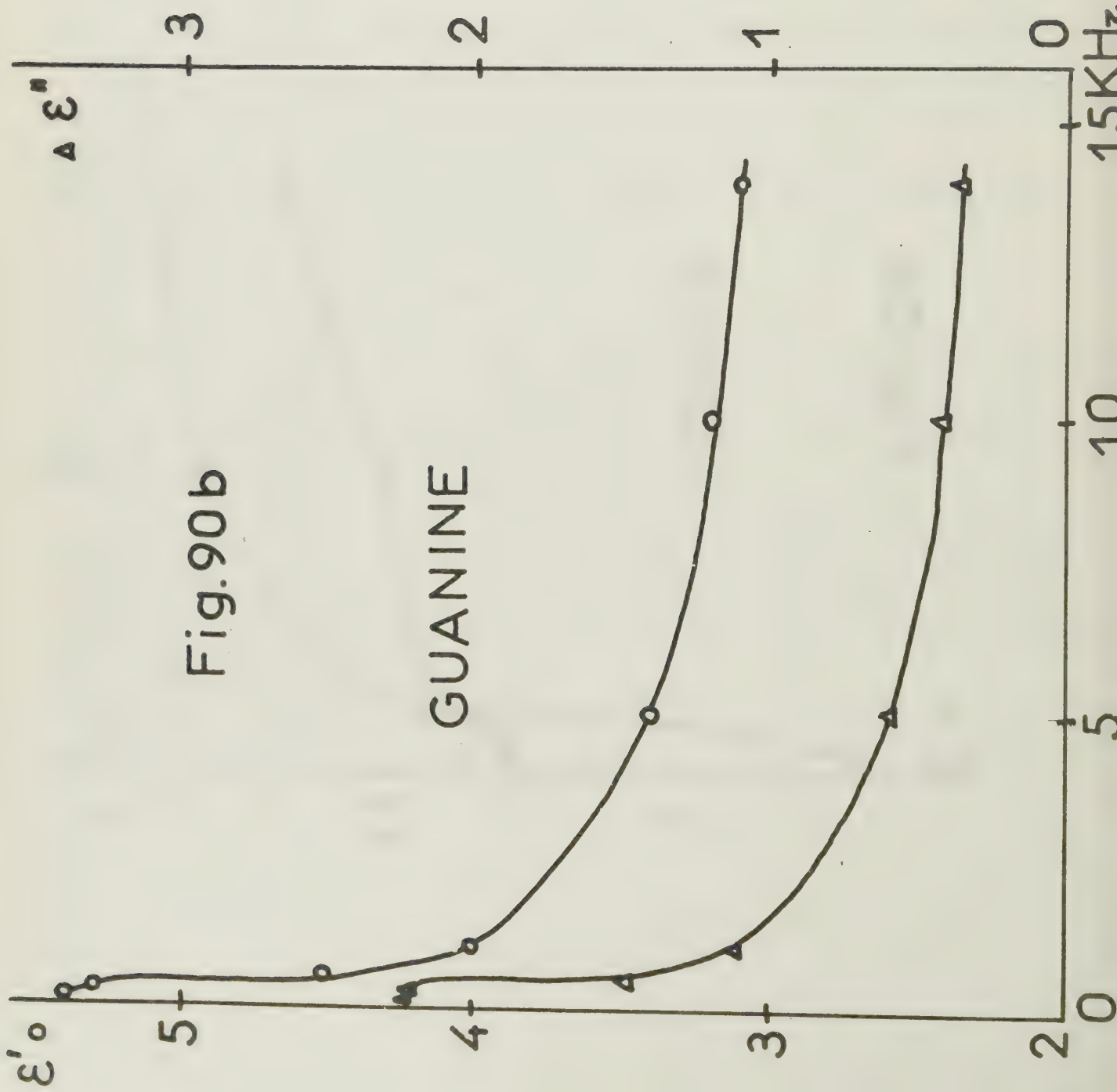


Fig. 90b



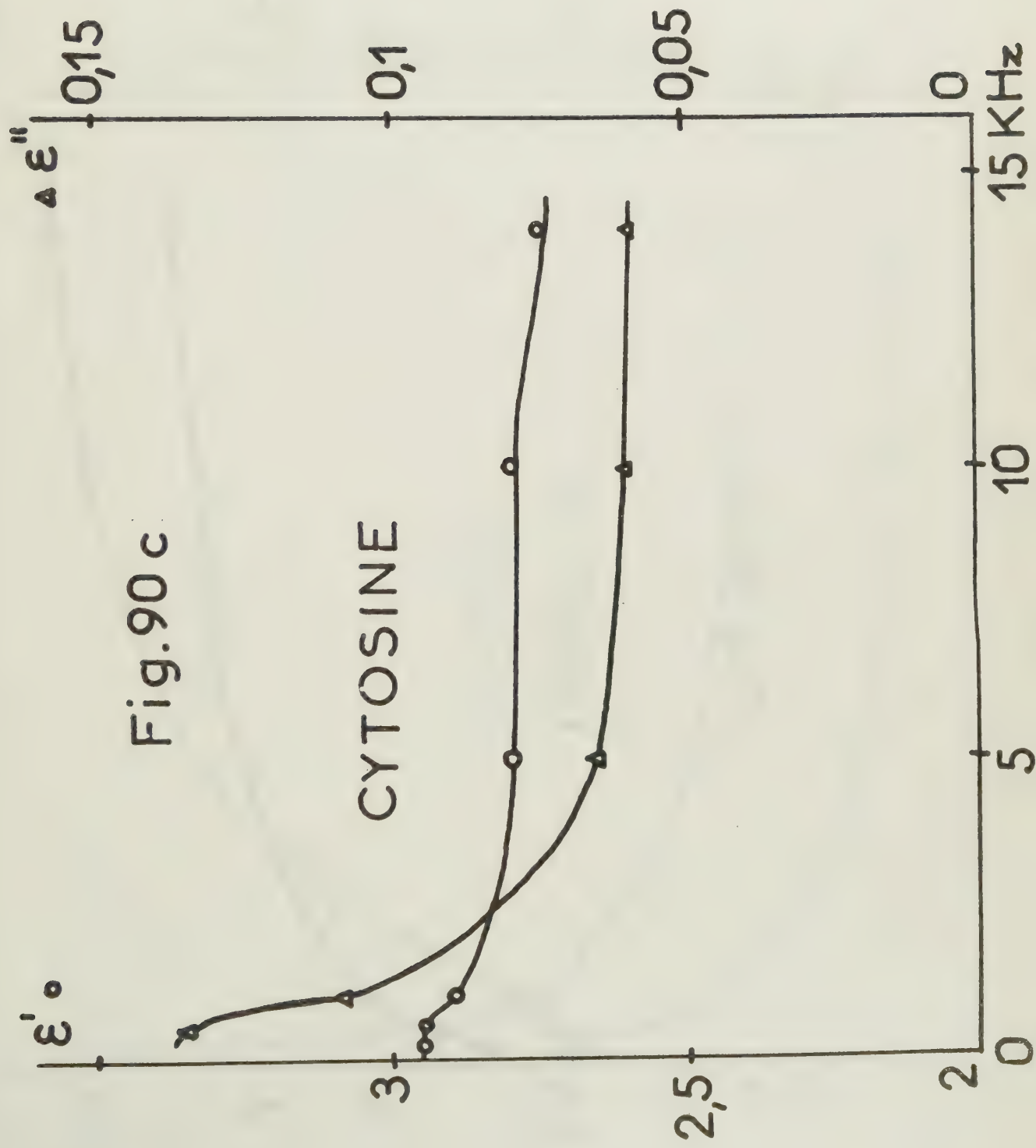
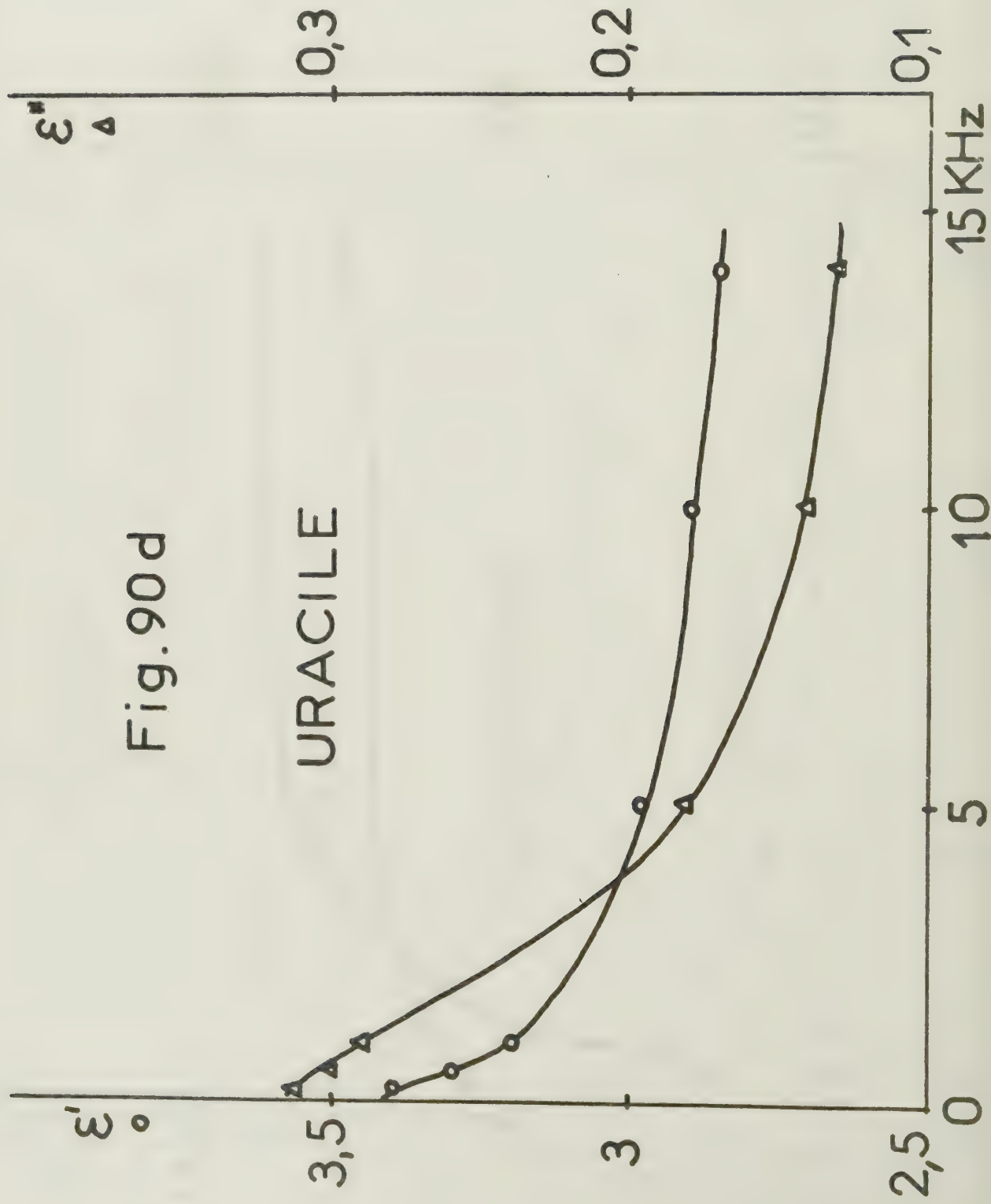
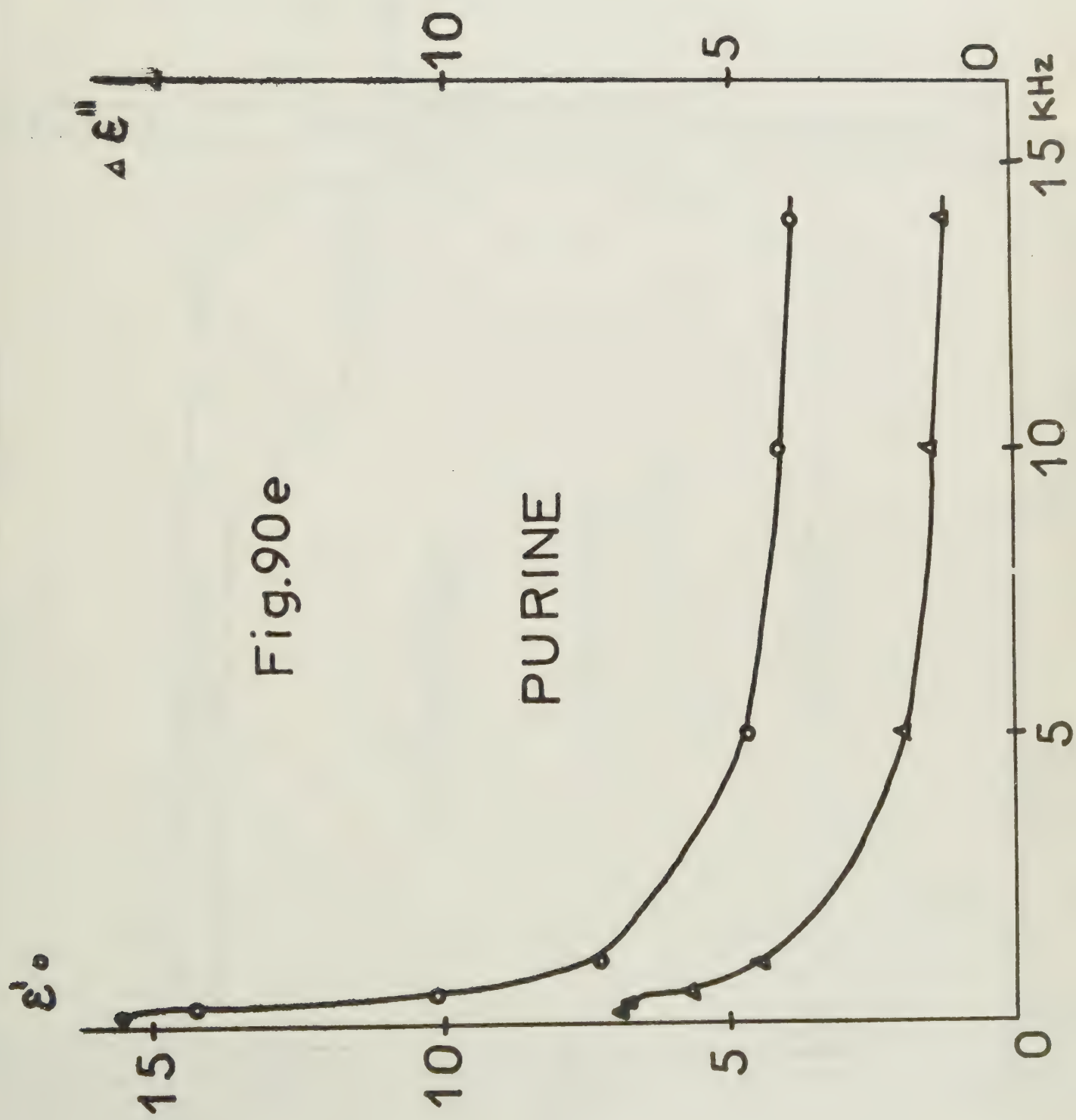
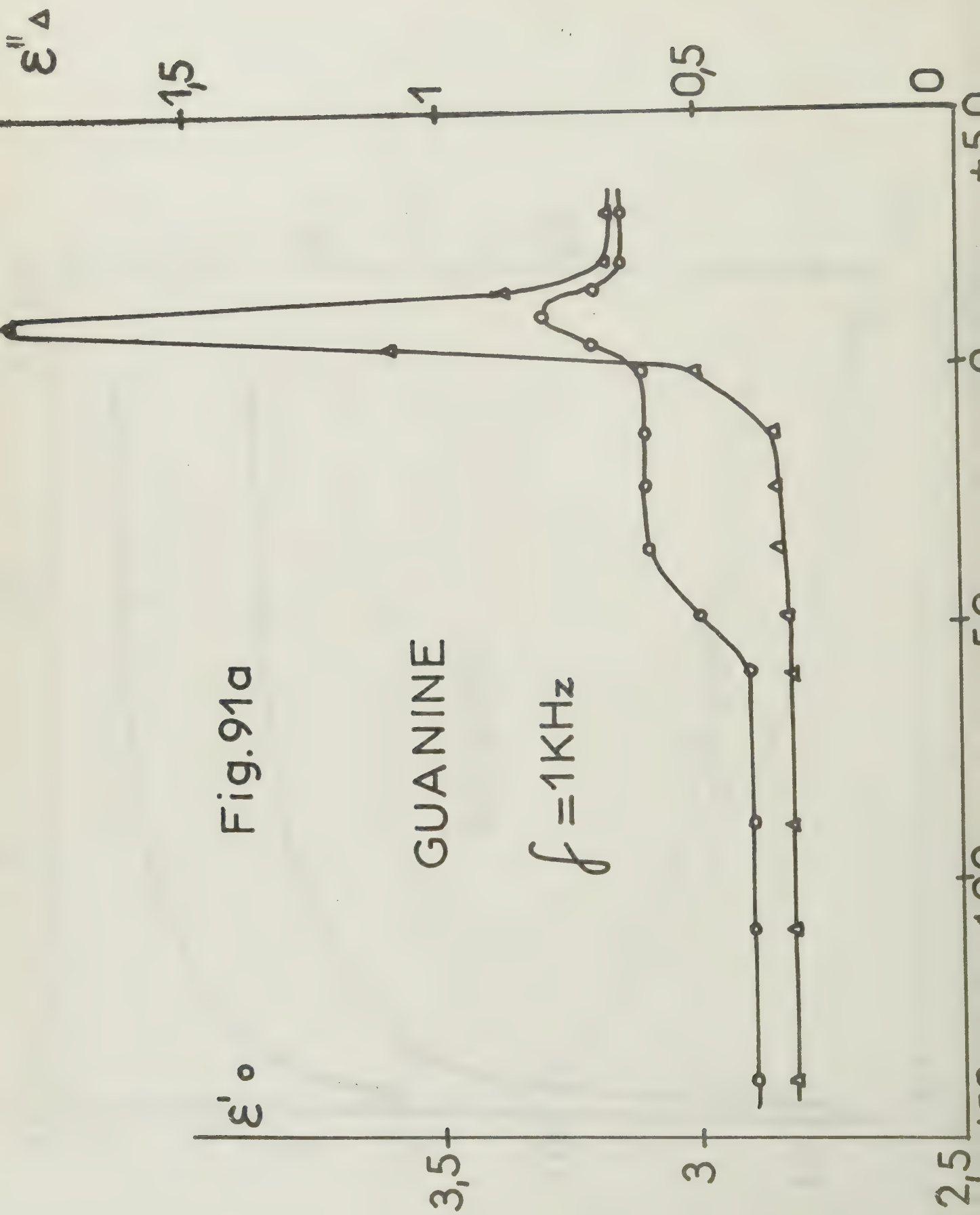


Fig. 90d

URACILE







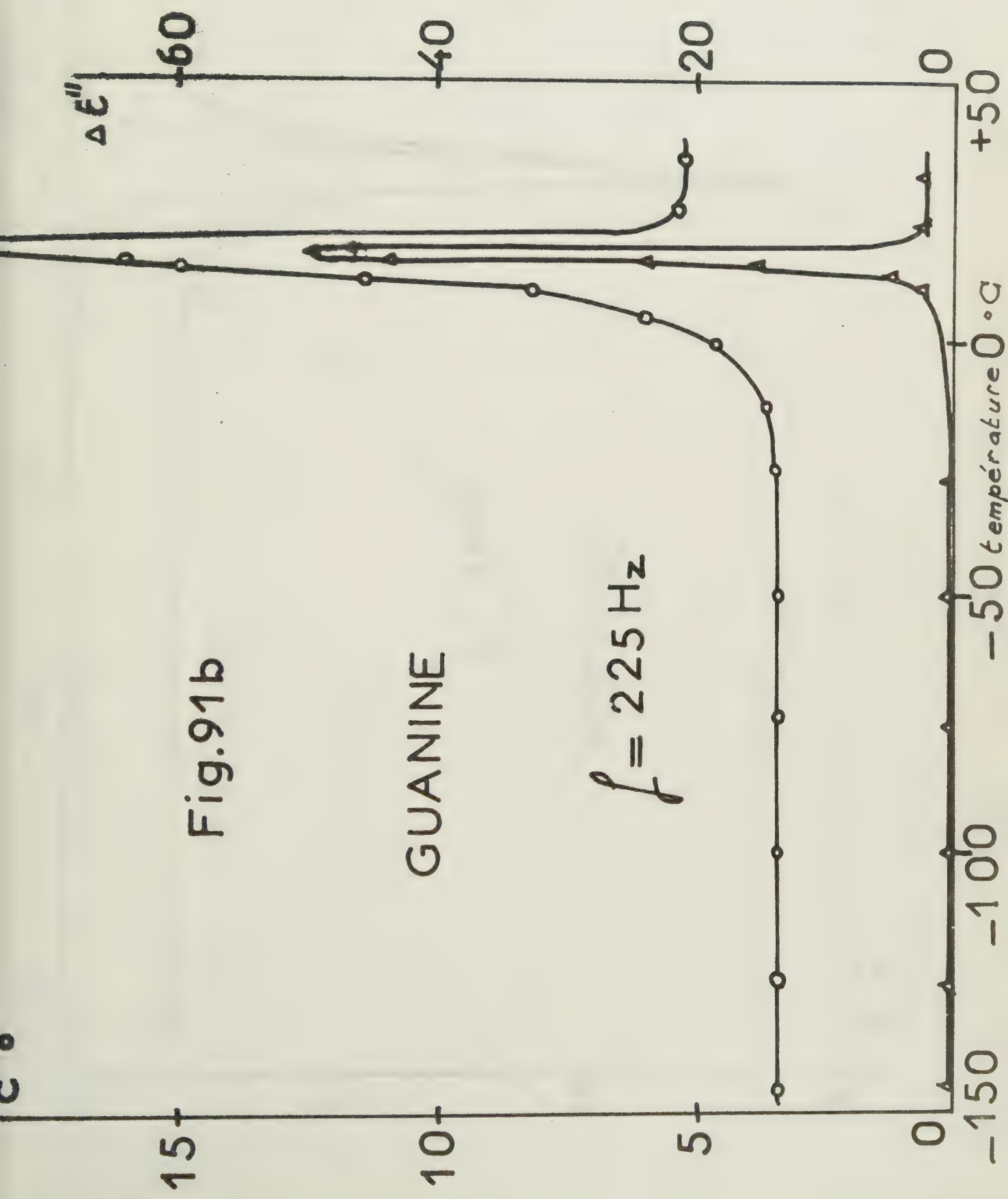


Fig. 91c

ADENINE

$f = 1\text{KHz}$

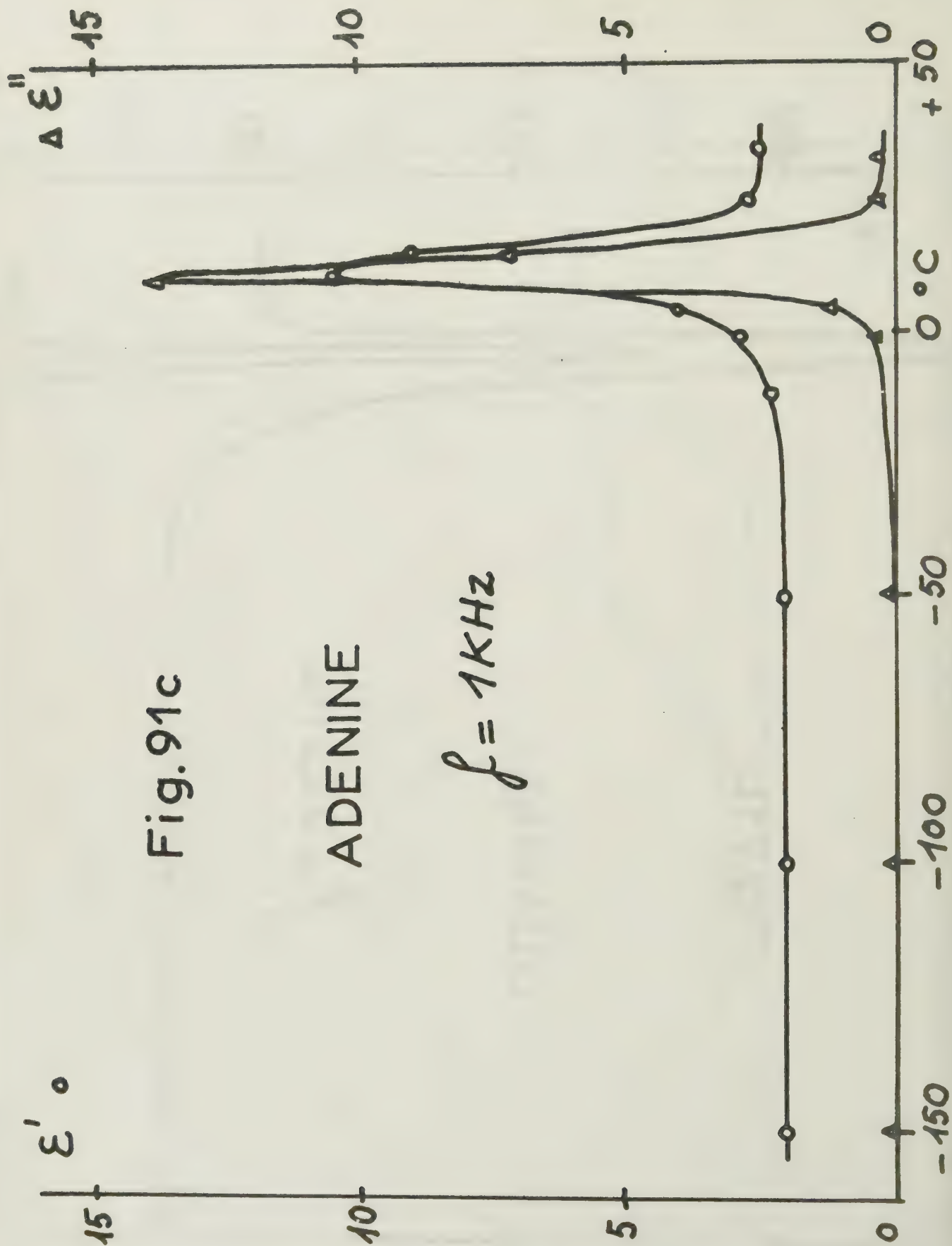


Fig. 91d

CYTOSINE

$f = 1 \text{ KHz}$

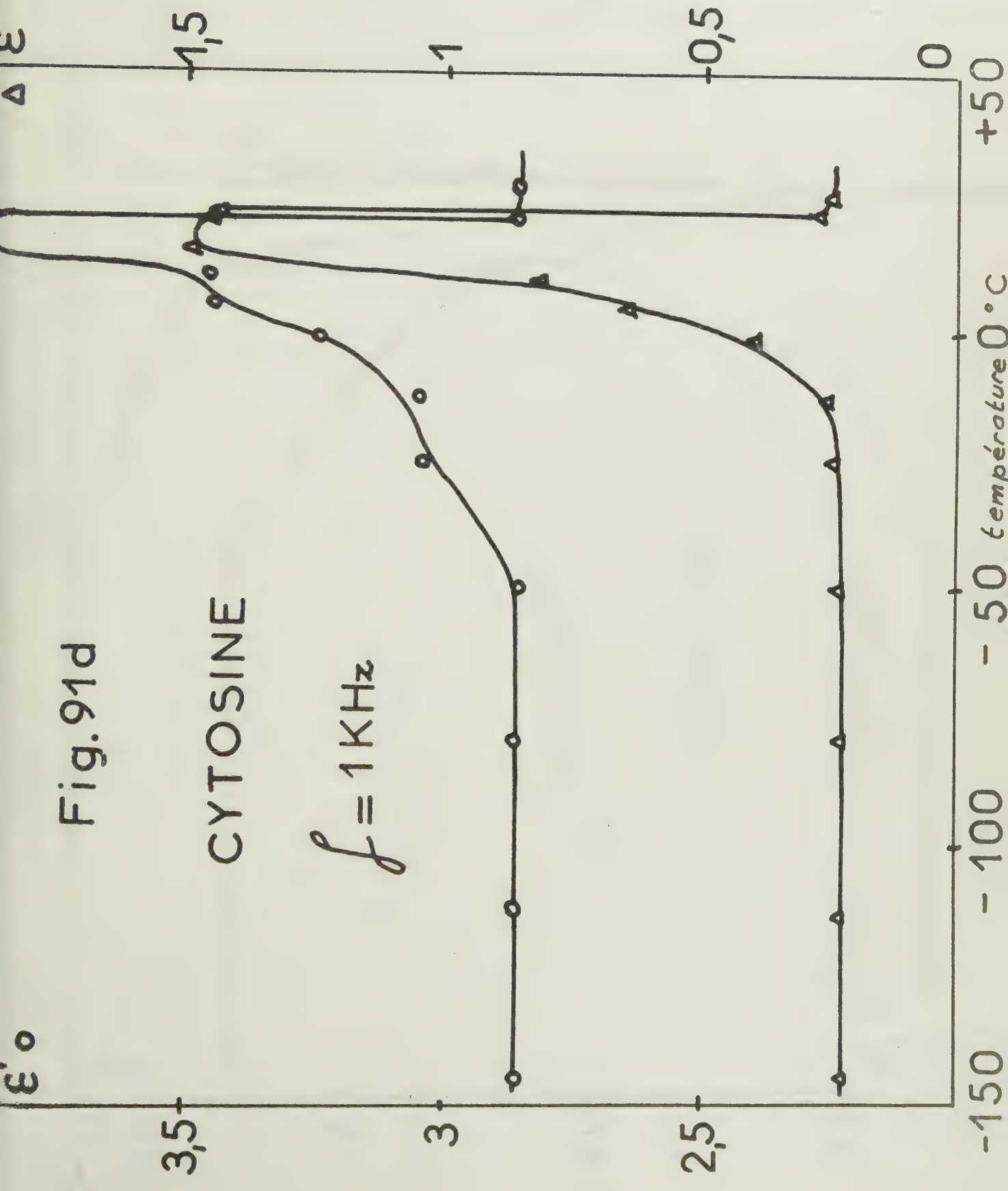
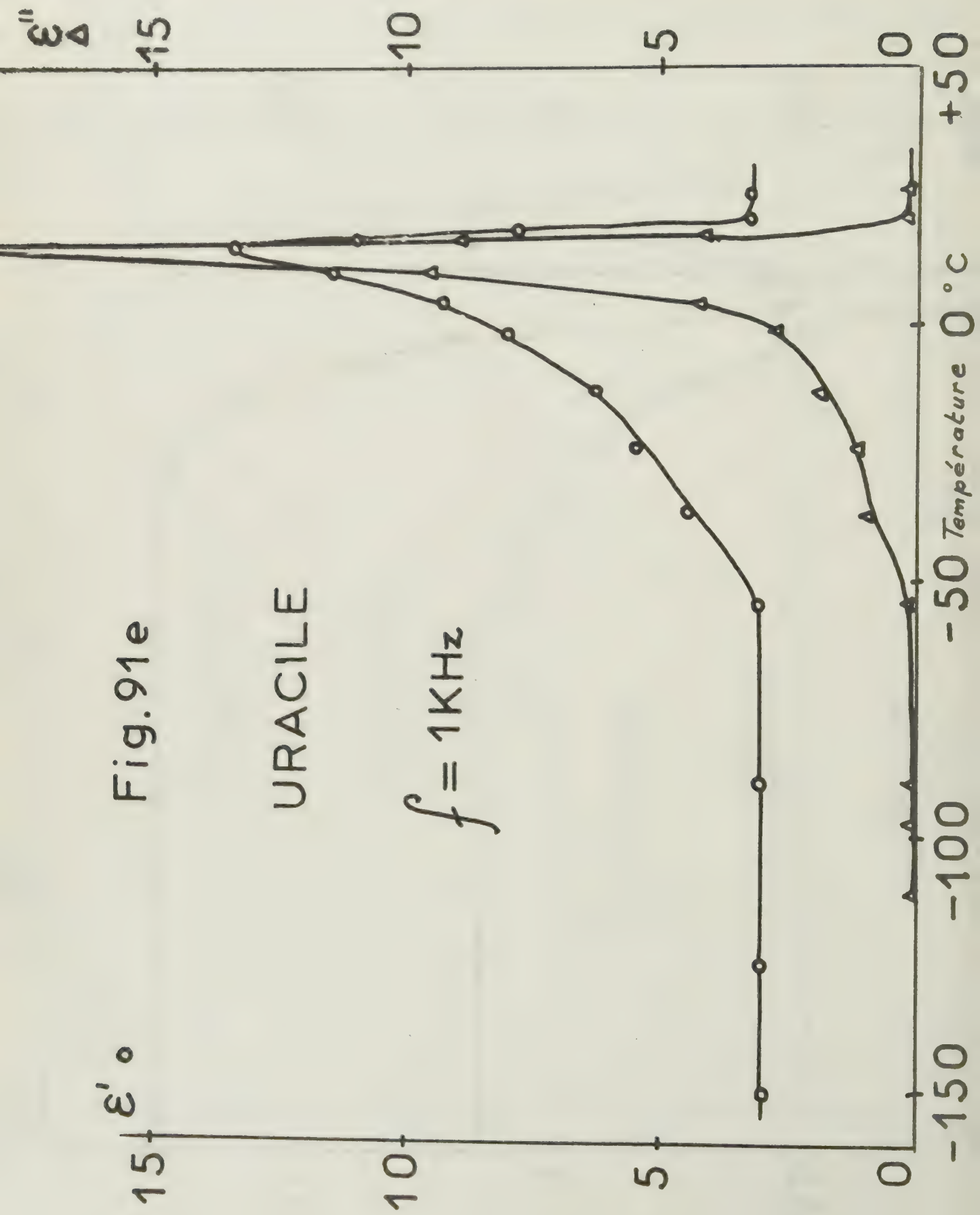
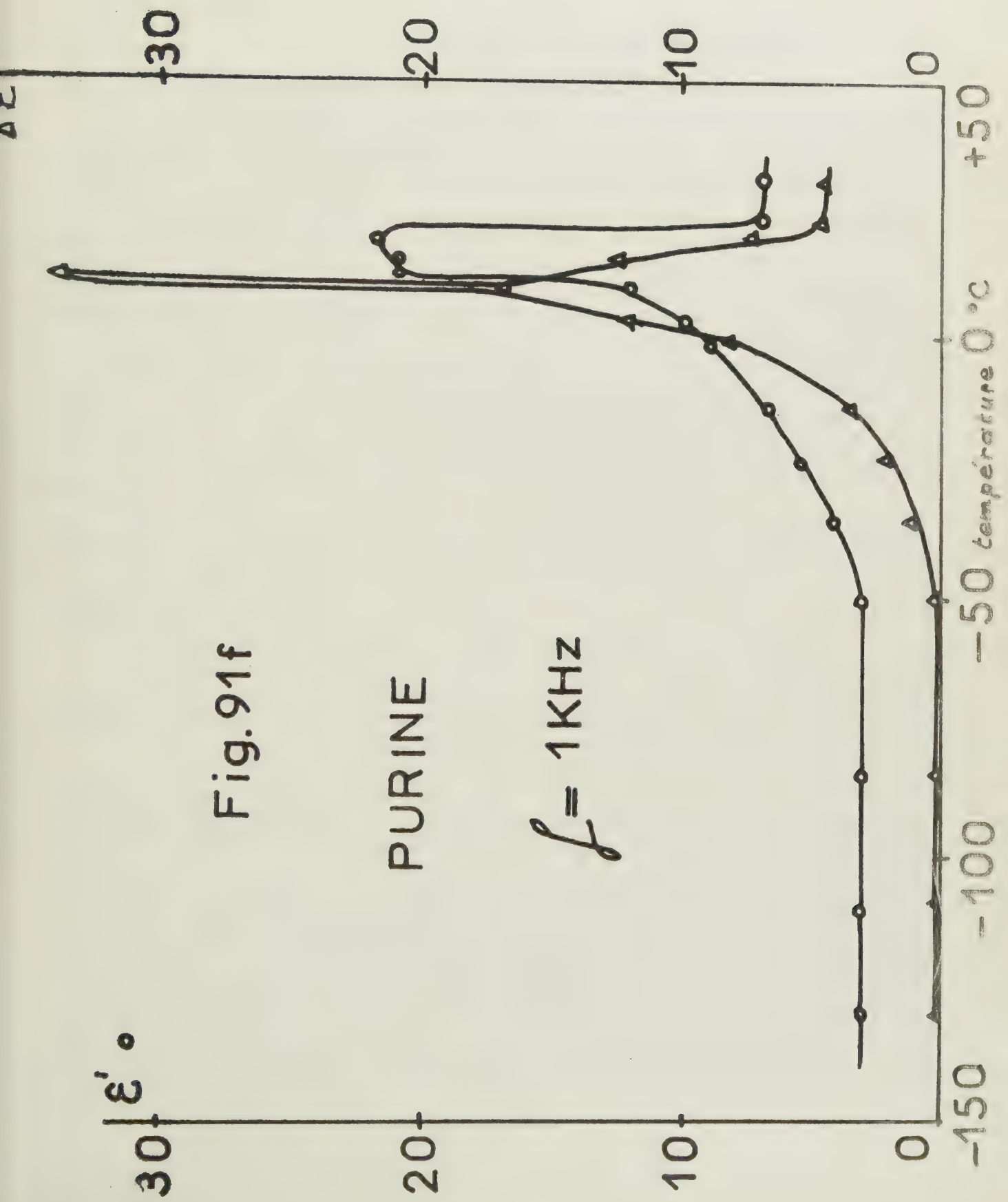


Fig. 91e

URACILE

$f = 1\text{KHz}$





III. INTERPRETATION DES RESULTATS

Le comportement très simple du produit sec est logique. Il est normal que le moment dipolaire soit bloqué dans l'état solide, et comme il n'y a pas de polarisabilité électronique ou ionique appréciable on doit obtenir une constante diélectrique faible avec très peu de pertes, pratiquement non influencée par la température et la fréquence.

L'influence de l'humidité est intéressante et on peut la rapprocher d'observations faites sur diverses autres substances. En particulier des relaxations du type dipolaire Debye ont été couramment signalées, provenant de l'eau additionnelle. Le comportement ici paraît plus complexe. Si l'on considère les mesures en fonction de la fréquence à la température ambiante, la variation de ϵ' rappelle en gros le comportement que l'on a en présence de phénomènes dipolaires simples, mais l'ampleur de la variation due à l'humidité paraît bien élevée. Par ailleurs la variation de ϵ'' n'est pas normale. On pourrait admettre qu'il y a une large distribution des temps de relaxation, mais rien ne justifie cette hypothèse. Il semble plus plausible d'admettre qu'en dehors des basses températures, les phénomènes ioniques jouent ici aussi un rôle important.

La conductibilité des bases augmente beaucoup en présence d'humidité; elle doit intervenir pour beaucoup dans les variations observées pour ϵ'' . Il paraît d'autre part nécessaire de tenir compte de l'hétérogénéité en présence d'humidité, et il en résulte un effet Maxwell-Wagner avec une région essentiellement diélectrique et une région essentiellement conductrice; les variations observées pour ϵ' en fonction de la fréquence peuvent alors être interprétées.

L'influence de la température, à fréquence fixe, se caractérise notamment par un pic de ϵ' et ϵ'' . Laissons pour le moment de côté ce pic. Si la conductibilité joue un rôle important dans l'évolution de ϵ'' , ϵ'' doit s'abaisser quand la température est assez basse. C'est bien ce que l'on observe en gros; et aux basses températures la conductibilité n'interviendra plus dans l'explication de la valeur résiduelle de ϵ'' .

Si l'existence d'une zone conductrice joue également un rôle important dans l'explication des valeurs élevées de ϵ' , ϵ' doit s'abaisser aussi quand la température est assez basse, et c'est bien conforme aussi à l'expérience dans une partie des cas.

Mais la complexité du comportement en fonction de la température amène à envisager aussi la possibilité d'une évolution dans la structure, quand la température varie. En particulier l'important pic simultané de ϵ' et de ϵ'' à une température déterminée qui ne dépend pas sensiblement de la fréquence paraît devoir s'expliquer par une modification structurale. Une telle modification se conçoit: on sait en effet que les molécules des bases puriques et pyrimidiques sont susceptibles d'exister sous plusieurs formes tautomères; des transitions sont donc possibles pour ces bases à l'état solide en présence d'humidité.

C O N C L U S I O N

Nous avons eu pour objectif en abordant ce travail d'apporter une contribution à nos connaissances alors très fragmentaires sur les propriétés électriques de l'acide désoxyribonucléique et ses constituants. Nos investigations se sont développées dans trois directions correspondant aux trois parties de ce travail.

Dans la première partie, nous avons précisé les phénomènes de transport de charge qui interviennent dans les bases hétérocycliques de l'ADN et de l'ARN, et dans l'ADN lui-même. Si la semiconduction semble être de nature électronique pour les bases puriques et pyrimidiques à l'état sec, la question est plus discutable en ce qui concerne l'ADN où les effets ioniques sont difficiles à éliminer. Les énergies d'activation pour la conduction ont été précisées. Nous avons pu relier qualitativement les résultats expérimentaux concernant les bases, avec les calculs théoriques relatifs aux niveaux d'énergie des électrons dans les molécules correspondantes, en tenant compte de nos connaissances sur leur structure cristalline.

Dans la deuxième partie consacrée aux effets piézoélectriques, nous décrivons un spectrographe susceptible de déceler les très faibles résonances piézoélectriques. Cet appareil nous a permis de mettre en évidence la piézoélectricité de deux bases, de trois nucléosides du 2-D-désoxyribose et de trois nucléosides du ribose.

L'étude diélectrique de la troisième partie nous a permis de préciser le comportement de l'entourage ionique de la macromolécule d'ADN en solution dans l'eau; on a obtenu un moyen diélectrique de suivre la dénaturation thermique et on a mis en évidence l'action dénaturante de la formamide et de l'urée.

D'une façon générale on a pu interpréter le comportement diélectrique de l'ADN, en faisant intervenir notamment des ions mobiles le long de la chaîne; un modèle a été précisé.

Nous avons déterminé aussi le comportement de l'ADN en phase solide en fonction de l'humidité relative. Cette étude a permis de mettre en évidence la transition diélectrique correspondant aux changements structuraux de l'ADN en fonction de l'humidité ambiante.

Enfin, l'étude diélectrique des bases de l'ADN et de l'ARN a été faite dans l'état solide en basse fréquence; un comportement très particulier est obtenu en présence d'une certaine humidité.

B I B L I O G R A P H I E

1. - F. MIESCHER Hoppe-Seyler's Medicinisch-Chemische
 Untersuchungen - 441 (1871)
2. - R. ALTMANN Arch. anat. U. Physiol. Abt. 524 (1889)
3. - P.A. LEVENE , L.A. MIKESKA, et T. MORI
 J. Biol. Chem. 85, 785. (1930)
4. - P.A. LEVENE et W.A. JACOBS
 Ber. dtsh. chem. Ges.
 42, 2102, 2469, 2474, 2703. (1909)
5. - J. BRACHET C.R. Soc. Biol. 133, 88. (1940)
 Enzymol. 10, 87. (1940)
6. - T. CASPERSSON J. Roy. Micr. Soc. 60, 8. (1940)
7. - C. VENDRELY L'Acide Désoxyribonucléique du noyau des
 cellules animales. Son rôle possible dans la Biochimie de
 l'Hérédité. Thèse - Strasbourg - (1951)
8. - Polynucléotides - R.F. STEINER et R.F. BEERS Jr.
 Elsevier Publishing Company - 1961 -
9. - G.H. BEAVEN, E.R. HOLIDAY et E.A. JOHNSON
 The Nucleic Acids Tome 1 p. 493-545
 Acad. Press. New-York - 1955 -
10. - E. CHARGAFF et S. ZAMENHOF
 J. Biol. Chem. 173, 327. (1948)
11. - R. THOMAS Recherches sur la structure et les fonctions
 des Acides Désoxyribonucléiques. Actualités Biochimiques. 1962
 Masson et Cie (Paris) et Desoer (Liège)
12. - P. DOTY, H. BOEDTKER, J.R. FRESCO, R. HASELKORN, et
 M. LITT Proc. Natl. Acad. Sci. 45, 482. (1959)

13. - J. R. FRESCO Tetrahedron, 13, 185. (1961)
14. - C. L. SADRON The Nucleic Acids, édit. E. CHARGAFF et
J. N. DAVIDSON Acad. Press. New-York. (1960) T. III p. 24
15. - J. D. WATSON et F. H. C. CRICK
Nature, 171, 737 (1953)
16. - M. H. F. WILKINS, A. R. STOCKES et H. R. WILSON
Nature, 171, 738 (1953)
17. - E. E. FRANKLIN et R. G. GOSLING
Nature, 172, 156 (1953)
18. - S. LANDRIDGE, D. A. MARVIN, W. E. SEEDS, H. R. WILSON,
C. W. HOOPER, M. H. F. WILKINS et L. D. HAMILTON
J. Mol. Biol. 2, 38 (1960)
19. - D. A. MARVIN, M. SPENCER, M. H. F. WILKINS et
L. D. HAMILTON
J. Mol. Biol. 3, 547 (1961)
20. - V. LUZZATI, A. NICOLAIEFF, et F. MASSON
J. Mol. Biol. 3, 185 (1961)
21. - V. LUZZATI Progress in Nucleic Acid Research. Edit.
J. N. Davidson et Waldo E. Cohn - vol. I, p. 347. Academic Press
New-York (1963)
22. - LIANG-TSE YU Journal de Physique, 24, 9 (1963)
23. - R. LACOSTE Thèse - Toulouse (1959)
24. - G. MESNARD et D. VASILESCU
C. R. Acad. Sc. Paris, 257, 4177 (1963)
25. - J. DUCHESNE, J. DEPIREUX, A. BERTINCHAMPS, N. CORNET
et J. M. VAN DER KAA
Nature, 188, 4748, 405 (1960)
26. - D. D. ELEY et D. I. SPIVEY
Trans. Faraday Soc. G. B., 470, 58, 411 (1962)

- 27. - R.S. SNART Trans. Farad. Soc. G.B. , 483, 59, 755 (1963)
- 28. - C.Y. LIANG et E.G. SCALCO
 Nature, 198, 4875, 86 (1963)
- 29. - D.D. ELEY et R.B. LESLIE
 Nature, 197, 4870, 898 (1963)
- 30. - A. PULLMAN et B. PULLMAN
 Proc. Nat. Acad. Sci. New-York, 44, 1197 (1958)
- 31. - D.D. ELEY, G.D. PARFITT, M.J. PERRY et D.H. TAYSUM
 Trans. Farad. Soc. G.B. , 49, 79 (1953)
- 32. - B. et A. PULLMAN
 Théories électroniques de la chimie organique - Masson, Paris (1952)
- 33. - A. RICH Rev. Mod. Phys., 31, 191 (1959)
- 34. - L. PAULING et R.B. COREY
 Arch. Bioch. biophys. , 65, 164 (1956)
- 35. - G.S. PARRY Acta. Crist. , 7, 313 (1954)
- 36. - A. SZENT-GYÖRGYI Science, 93, 609 (1941)
- 37. - J. LADIK Acta. Phys. Acad. Sci. Hungaria, 11, 239 (1960)
- 38. - I. TINOCO J. Amer. Chem. Soc. , 82, 4785 (1960)
- 39. - R.W.G. WYCKOFF Crystal Structures, Interscience, vol. V.
- 40. -- S. FURBERG Nature GB., 164, 22 (1949)
- 41. - W.P. MASON, Piezoelectric crystals and their application to
 ultrasonics, Van Nostrand , New-York, 1950 , p. 47
- 42. - G. MESNARD et D. VASILESCU
 89^{ème} Congrès National des Sociétés Savantes,
 Lyon. 2-8 Avril 1964.

43. - J. DUCHESNE et MONFILS Bul. Acad. Roy. Belge, Cl. SC.
 XLI, 165, (1955).
44. - J. DUCHESNE et MONFILS
 J. Chem. Phys., 23, 762, (1955).
45. - S. KOJIMA, K. TSUKADA , S. OGAWA , A. SHIMAUCHI et
N. MATSUMIA.
 J. PHYS. Soc. Japan, 10, 265, (1955).
46. - S. KOJIMA . K. TSUKADA , S. OGAWA , A. SHIMAUCHI et
Y. ABE
 J. Phys. Soc. Japan, '9, 805 , (1954).
47. - Y. YOKOZAWA et I. TATSUZAKI. J. Phys. Soc. Jap., 11, 85, (1956).
48. - J.R. WHITEHEAD, Superregenerative Receivers, Cambridge
University Press, 1950.
49. - T.P. DAS et E.L. HAHN, Nuclear Quadrupole Resonance Spectro-
scopy . Solid State Physics, Suppl. 1, Academic Press, 1958, p. 90.
50. - P. GRIVET et A. BASSOMPIERRE , Application à la Biochimie et
à la Chimie Structurale de la Spectroscopie des Radiofréquences.
Colloque de Bruxelles. 6-7 Avril 1961.
Acad. Roy. Belg. T. XXXIII . Fasc. 3, p. 219.
51. - G. MESNARD et D. VASILESCU, C. Rend. Ac. Sc.; 258, 3373, (1964).
 idem. à paraître.
52. - M. READ et J. DUCHESNE, C. Rend. Ac. Sc., 257, 1724, (1963).
53. - H. G. JERRARD et B.A.W. SIMMONS, Nature, 184, sp. 22, 1715, (1959)
54. - G. JUNGNER, Acta Physiol. Scand., 10, sup. 32,3, (1945).
55. - I. JUNGNER, Acta Physiol. Scand. , 20, sup. 69, 3, (1950).
56. - M. HANSS, R. VIOVY et C. SADRON,
 C. Rend. Ac. Sc; 256, 4510, (1963).
57. - G. MESNARD et D. VASILESCU, Annales de l'Université de Lyon
Fascicule XIV (Section Sciences) 1964.

- 58. - G. MESNARD et D. VASILESCU, Bioch. Biophys. Acta, à paraître.
- 59. - J. MARMUR et D. LANE, Proc. Natl. Ac. Sci., 46, 453, (1960).
- 60. - P. DOTY, J. MARMUR, J. EIGNER et C. SCHILDKRAUT,
Proc. Natl. Ac. Sci., 46, 461, (1960).
- 61. - M. H. F. WILKINS, Angew. Chem., 75 Jahrg., 429, (1963).
- 62. - C. SADRON, The nucleic acids, edit. E. Chargaff et J. N. Davidson
Acad. Press, New-York, 1960, T. III, p. 24.
- 63. - V. LUZZATI, Progress in Nucleic Acids Research, edit. J. N.
Davidson et W. E. Cohn, Acad. Press, New-York,
1963, T. I, p. 347.
- 64. - G. A. JOHNSON et S. M. NEALE, J. Polym. Sci., 54, 241, (1961).
- 65. - C. T. O'KONSKI, J. Phys. Chem., 64, 605, (1960).
- 66. - P. INGRAM et H. G. JERRARD, Science Progress, 49, 651, (1961).
- 67. - G. SCHWARZ, Z. Phys., 145, 563, (1956).
Z. Phys. Chem., 19, 286, (1959).
- 68. - M. MANDEL, Molecular Physics, 4, n° 6, 489, (1961).
- 69. - T. L. HILL, Arch. Biochem. Biophys., 57, 229, (1955).
- 70. - C. TANFORD, J. Phys. Chem., 59, 788, (1955).
- 71. - P. O. P. TS'O, G. K. HELMKAMP et C. SANDERS
Biochim. Biophys. Acta, 55, 584, (1962).
- 72. - G. K. HELMKAMP et P. O. P. TS'O
Biochim. Biophys. Acta, 55, 601, (1962).
- 73. - P. ALEXANDER et K. A. STACEY, Biochem. J., 60, 194, (1955).
- 74. - P. ALEXANDER et K. A. STACEY, Nature, 176, 162, (1955).

- 75. - P. DOTY et S. A. RICE, Biochim. Biophys. Acta., 16, 446', (1955).
- 76. - S. A. RICE et P. DOTY, J. Amer. Chem. soc., 79, 3937, (1957).
- 77. - P. O. P. TS'O, G. K. HELMKAMP et C. SANDERS
Proc. Natl. Acad. Sci., 48, 686, (1962).
- 78. - M. FALK, K. A. HARTMANN et R. C. LORD
J. Amer. Chem. Soc., 84, 3843, (1962).
- 79. - J. Amer. Chem. Soc., 85, 387, (1963).
- 80. - J. Amer. Chem. Soc., 85, 391, (1963).
- 81. - R. E. FRANKLIN et R. G. GOSLING, Acta Cryst., 6, 673, (1953).
- 82. - C. T. O'KONSKI, P. MOSER et M. SHIRAI
Quantum Aspects of Polypeptides and Polynucleotides
Biopolymers-Symposia N° 1, p. 479.
Interscience Publishers, 1964.
- 83. - H. BERTHOD et A. PULLMAN, C. Rend. Ac. Sci., 257, 2738, (1963).

TABLE DES MATIERES

-INTRODUCTION

I. Aperçu historique et biologique	1
II. Description biochimique de l'ADN	2
III. Description biophysique	9
IV. But de notre travail	19

-1^{ère} PARTIE. Semiconductibilité de l'ADN et des bases puriques et pyrimidiques de l'ADN et de l'ARN.

I. Dispositif experimental	21
II. Etudes entreprises	29
III. Essai d'interpretation théorique des résultats	49

-2^{ème} PARTIE. Résonances piézoélectriques

I. But de l'étude	61
II. Description du spectrographe réalisé	64
III. Résultats	80
IV. Origine des résonances	83

-3^{ème} PARTIE. Propriétés diélectriques

A) Etude des solutions d'ADN

I. Problèmes posés, Influence des ions	95
II. Dispositif d'étude	98
III. Résultats relatifs à des solutions salines dans l'eau	99
IV. Interprétation des résultats	108
V. Action des agents dénaturants	126

B) Etude de l'ADN en phase solide

I. Importance de l'humidité	132
II. Hygrostat	132
III. Dispositif experimental de mesures	136
IV. Résultats	143
V. Interprétation des résultats	147

C) Etude des bases puriques et pyrimidiques

I. Mesures	149
II. Résultats	149
III. Interprétation des résultats	162

-CONCLUSION

-BIBLIOGRAPHIE

-DEUXIEME THESE-

Propositions données par la Faculté

ROTATION INTERNE DANS LES MOLECULES

Vu :

Les Membres du Jury :

signé : G. MESNARD

R. UZAN

G. ASCH

Vu et approuvé :

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

signé : J. BRACONNIER

Vu et accordé le permis d'imprimer:

Lyon, le 22 Septembre 1964

Le Recteur

Président du Conseil de l'Université

signé : P. LOUIS

